
22101523357



Encyklopädie
der
Mikroskopischen Technik
mit besonderer Berücksichtigung der
Färbelehre.

In Verbindung mit

Prof. Dr. E. Ballowitz, Greifswald — Dr. Bargum, Altona — Prof. Dr. C. Benda, Berlin — Docent Dr. A. Bethe, Strassburg — Dr. F. Blum, Frankfurt a. M. — Dr. W. Cowl, Berlin — Prof. Dr. A. Dogiel, St. Petersburg — Docent Dr. A. Fischel, Prag — Dr. F. Friedmann, Berlin — Prof. Dr. M. Heidenhain, Tübingen — Dr. C. Helbing, Berlin — Dr. H. Herzog, Berlin — Dr. B. Heymann, Breslau — Wirkl. Staatsrath Prof. Dr. H. Hoyer, Warschau — Prof. Dr. H. Hoyer, Krakau — Dr. F. Juliusberg, Frankfurt a. M. — Prof. Dr. E. Kallius, Göttingen — Dr. V. Klingmüller, Breslau — Docent Dr. F. von Krzysztalowicz, Krakau — Prof. Dr. A. Künnemann, Hannover — Dr. R. Ledermann, Berlin — Prof. Dr. O. Lubarsch, Posen — Dr. W. Magnus, Berlin — Prof. Dr. P. Mayer, Neapel — Prof. Dr. R. Metzner, Basel — Docent Dr. F. Meves, Kiel — Dr. L. Michaelis, Berlin — Prof. Dr. E. Müller, Stockholm — Dr. C. Neuberg, Berlin — Docent Dr. L. Neumayer, München — Prof. Dr. F. Nissl, Heidelberg — Dr. Nocht, Hamburg — Docent Dr. R. Oestreich, Berlin — Dr. A. Pappenheim, Hamburg — Docent Dr. K. Peter, Breslau — Geh. Regierungsrath Dr. R. J. Petri, Görbersdorf — Dr. F. Pinkus, Berlin — Dr. H. G. Plimmer, London — Dr. H. Poll, Berlin — Prof. Dr. Fr. Reinke, Rostock — Prof. Dr. J. Schaffer, Wien — Geh. Medicinalrath Prof. Dr. H. Senator, Berlin — Prof. Dr. B. Solger, Greifswald — Prof. Dr. W. Spalteholz, Leipzig — Prof. Dr. A. Spuler, Erlangen — Prof. Dr. F. Strassmann, Berlin — Prof. Dr. L. Szymonowicz, Lemberg — Docent Dr. K. v. Tellyesnicky, Budapest — Dr. R. Thomé, Strassburg — Dr. P. G. Unna, Hamburg — Stabsarzt Dr. v. Wasielewski, Berlin — Docent Dr. G. Wetzel, Berlin — Geh. Regierungsrath Prof. Dr. O. N. Witt, Charlottenburg — Dr. A. Wolff, Königsberg — Prof. Dr. O. Zoth, Innsbruck

herausgegeben von

Prof. Dr. Paul Ehrlich,
Geh. Medicinalrath und Direktor des königlichen Institutes für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.

Dr. Rudolf Krause,
a. o. Professor an der Universität Berlin

Dr. Max Mosse,
Assistent an der medicinischen Poliklinik der Universität Berlin

Prof. Dr. Heinrich Rosin,
Berlin

Prof. Dr. Carl Weigert,
Geh. Medicinalrath und Direktor des Dr. Senckenbergischen pathologisch-anatomischen Institutes zu Frankfurt a. M.

ZWEITER BAND
Lamellibranchier. — Zusatzflüssigkeiten und Register
(Bog. 45 — Schluss).

Mit 83 Abbildungen.

URBAN & SCHWARZENBERG
BERLIN — N., FRIEDRICHSTRASSE 105b
WIEN — I., MAXIMILIANSTRASSE 4
1903.


WELLCOME
HISTORICAL
MEDICAL
LIBRARY

Lamellibranchier siehe Mollusken.

Lauth's Violett, Syn. für Thionin.

Lebendes und überlebendes Objekt, Beobachtung desselben.

Einleitung. Die moderne histologische Technik mit ihrem Reichthum an vortrefflichen Methoden, den feineren Bau der lebenden Objekte zu untersuchen, hat verschiedene Perioden der Entwicklung durchlaufen. Eine der ersten Perioden beschreibt Henle sehr bezeichnend in dem schönen Bilde, das er im Archiv für mikroskopische Anatomie, Bd. 21, von seinem Jugendfreunde Schwann gegeben hat, folgendermassen: »Es waren die glücklichen Tage, die uns die heutige Generation beneiden mag, da aus den Werkstätten von Plössl in Wien, von Pistor und Schieck in Berlin die ersten guten, handlichen und aus den Ersparnissen eines studentischen Wechsels erschwinglichen Mikroskope hervorgingen, die glücklichen Tage, da es noch möglich war, durch Schaben mit der Schneide des Skalpells oder mit dem Fingernagel über eine thierische Membran fundamentale Entdeckungen zu machen.«

In diesen wenigen Worten finden wir die beste Charakteristik jener Zeit, wo die Beobachtung der lebenden und überlebenden Objekte die Hauptmethode der histologischen Forschung war. Seit diesen Tagen sind indessen viele Jahre verflossen. Die histologische Technik ist ausserordentlich bereichert worden. Viele Färbungs- und Fixirungsmethoden sind erfunden, vermittels welcher man mit beinahe gleich grosser Leichtigkeit wie in Henle's Jugendzeit histologische Entdeckungen machen kann. Kein Wunder darum, dass die alten Methoden und Verfahren: die Gewebe so frisch wie möglich zu untersuchen, vernachlässigt und vergessen wurden.

In der letzten Zeit haben indess die Histologen eine wichtige Mahnung erhalten, die alte Untersuchungsweise etwas mehr zu beachten. Wie bekannt hat der Botaniker Fischer eine scharfe Kritik gegen die modernen histologischen Untersuchungsmethoden, besonders die Fixirungsmethoden gerichtet, indem er meint, dass diese durch ihre fällenden Wirkungen auf die flüssigen Zellenbestandtheile in vielen Fällen die beschriebenen Strukturverhältnisse hervorrufen, wonach also viele von den modernen histologischen Errungenschaften nur Kunstprodukte seien.

Nach meinem Dafürhalten haben diese Untersuchungen ganz kritiklos von allzu vielen Seiten eine Zustimmung erhalten, die sie durchaus nicht verdienen. Ich muss daher mit Benda [1]) scharf betonen, dass die Fischer'schen Untersuchungen bisher kein einziges histologisches Ergebniss aus der Welt geschafft haben. Die grösste Bedeutung, welche diese Untersuchungen erhalten könnten, wäre die, dass sie ein lebhafteres Interesse für das Studium frischer Gewebe erwecken würden. Dies ist auch der Grund, warum sie hier erwähnt werden.

Meiner Ansicht nach besteht die Schwäche unserer Fixirungsmittel nicht so sehr in einer fällenden als vielmehr in einer lösenden und destruirenden Einwirkung auf die theils weichen halbfesten, theils flüssigen Zellbestandtheile. Die Fixirungsmittel entfernen also theilweise die Zellbestandtheile, theilweise verändern sie dieselben und lassen sie unter einer anderen Form als der natürlichen hervortreten. Es wäre an der Zeit, dass das kritiklose Verfahren einiger moderner Histologen, welche ohne die geringste Rücksicht auf die von ihnen angewandte Behandlung der Zelle nur die abenteuerlichsten »Entdeckungen« zu machen streben, durch eine mehr exakte und nüchterne Arbeitsmethode ersetzt würde. Der Anfang zu einer solchen kann dadurch gemacht werden, dass der Untersucher die in früheren Zeiten viel mehr gebrauchte Methode aufnimmt, die Bilder von den frischen

und den fixirten Geweben mit einander zu vergleichen und zu erfahren sucht, ob die fixirten Formen den frischen wirklich entsprechen und, wenn dies nicht der Fall ist, nachforscht, worin die verändernde Wirkung der Fixirung besteht. So wird die Untersuchung der Wirkung der Fixirungsmittel auf die Zellenbestandtheile eine zeitgemässe Aufgabe der histologischen Technik, auch wenn man nicht auf dem nihilistischen Standpunkt von FISCHER steht. Dass die genannte Aufgabe: die Vergleichung des fixirten und frischen Materiales in vielen Fällen eine recht schwierige ist, hebt nicht die Berechtigung dieser Forderung auf. Die Schwierigkeit dieser Aufgabe wird dadurch nicht umgangen, dass man in unserer Zeit sehr wenig Interesse zeigt, eine besondere Methodik zur Untersuchung frischer Gewebe zu erfinden.

Die vorstehenden Erörterungen motiviren die Aufnahme des Kapitels: »Beobachtung am lebenden und überlebenden Objekt« in eine Encyklopädie der mikroskopischen Technik. Die einleitenden Worte sind, wie man wohl leicht versteht, von dem Standpunkte der Zoo-Histologie geschrieben. Die hervorgehobenen Verhältnisse beziehen sich nämlich vor allem auf diese Disciplin der biologischen Wissenschaften. Bei den Botanikern und Bakteriologen findet viel häufiger eine Untersuchung der Objekte in natürlichem Zustande statt, und darum wird bei ihnen die Technik der Untersuchung von lebenden Geweben in der Gegenwart besser gepflegt. Aus diesem Grunde haben auch die Zoo-Histologen von den genannten Forschern viel zu lernen.

Für viele Litteraturangaben aus dem bakteriologischen, zoologischen und botanischen Gebiete, die ich von meinen hiesigen Kollegen, den Professoren E. ALMQUIST, HJ. THÉEL und G. LAGERHEIM erhalten habe, sage ich denselben hiermit meinen besten Dank.

Feuchte Kammern und ähnliche Einrichtungen.

Die einzelligen Organismen, sowie die frei umherwandernden Zellen und die Embryonalformen der höheren Organismen bilden das Material, welches sich am besten eignet, direkt unter dem Mikroskope in ihren natürlichen Medien untersucht zu werden. Solche Untersuchungen müssen selbstverständlich während einer gewissen Zeit ohne äussere störende Einflüsse fortgesetzt werden. Vor allem muss man eine Abdunstung der umgebenden Flüssigkeit vermeiden und dies hat zu der Aufstellung verschiedener Formen von »feuchten Kammern« geführt. Es findet sich in der Litteratur eine ungemein grosse Menge solcher Kammern von in den Details verschiedenen Konstruktionen, aber einander insoweit principiell ähnlich, als sie einen geschlossenen Raum um das zu untersuchende Objekt bilden.

Eine Durchmusterung der älteren Litteratur lehrt auch, dass die Erfindung einer feuchten Kammer in der principiellen Form, die noch gebraucht wird, unabhängig von einander von mehreren biologischen Forschern gemacht worden ist. Das Ausdenken dieser einfachen, aber doch für die Forschung so wichtigen Einrichtung fällt in die Zeit, aus der die Gewebelehre, die Bakteriologie in der Botanik wurzelnd, und die experimentelle Pathologie ihren modernen Aufschwung datiren.

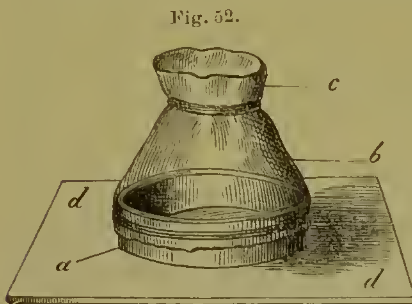
Die feuchte Kammer von v. RECKLINGHAUSEN[2]) entstand im Zusammenhang mit den klassischen Untersuchungen dieses Autors: »Ueber Eiter- und Bindegewebskörperchen.« Bei dem Studium dieser Körperchen fand RECKLINGHAUSEN, wie wichtig es war, alle schädlichen äusseren Einflüsse, zunächst den Druck und die Verdunstung zu vermeiden. Darum konstruirte er folgende Einrichtung (Fig. 52): Ein Glasring, z. B. der abgesprengte Theil eines Lampencylinders, wird mit einem Tropfen Oel an den Objektträger festgeklebt. Ueber dem Ring befindet sich ein Beutel, der sowohl mit dem Ringe wie

mit der Mikroskophülse fest verbunden ist. Um den Raum mit Flüssigkeit gesättigt zu erhalten, legt man in Wasser getränkte Filtrirpapierstücke oder Hollundermarkstreifen sowohl innerhalb des eingeschlossenen Raumes wie ausserhalb von dessen Peripherie. Man untersucht ohne Deckglas direkt das auf dem Boden der Kammer liegende Objekt.

Einen weiteren bedeutenden Fortschritt in der Konstruktion der feuchten Kammer machte dann KÜHNE.[3]) Der Fehler in der Kammer von RECKLINGHAUSEN bestand natürlich darin, dass man ohne Deckglas untersuchen musste. Diesem Fehler wird von KÜHNE abgeholfen, ohne dabei die anderen Vortheile zu beschränken. Bei seinen Untersuchungen über die Endigungen der Nerven in dem quergestreiften Muskelgewebe bediente er sich der folgenden Einrichtung. Auf die Cylinderblendung des Mikroskopes wurde nach Entfernung des feineren Diaphragmas ein fast bis zum Boden abgesprengtes Becherglas gesetzt, dessen abgeschliffener Rand mit einem sehr grossen Deckglase bedeckt wird. Auf den Boden des Gläschens wird zur Sättigung des eingeschlossenen Raumes mit Wasserdampf etwas Wasser gegossen, hierauf das Präparat in einer Spur von Serum auf der unteren Fläche des Deckglases ausgebreitet und dieses mit der reinen Fläche nach oben als Deckel auf das Becherglas gelegt. KÜHNE gebührt also das Verdienst, das principiell so wichtige Untersuchungsverfahren im hängenden Tropfen in die Biologie eingeführt zu haben.

Diese von KÜHNE erfundene Kammer wurde auch von COHNHEIM[4]) bei seinen berühmten Untersuchungen über den feineren Bau der quergestreiften Muskelfasern gebraucht, und dies muss die Ursache sein, dass diese Einrichtung in der Litteratur den Namen »COHNHEIM's Kammer« erhalten hat.

Fig. 52.



Die feuchte Kammer von KÜHNE wurde dann von BOETTCHER[5]) modificirt und in den bakteriologischen Handbüchern wird sie auch allgemein BOETTCHER's Kammer genannt. Nach der oben gegebenen Darstellung gehört indess KÜHNE das Verdienst an dem principiell Wichtigen in dieser Einrichtung. BOETTCHER fixirte einen 5—6 Mm. hohen dickwandigen Glasring von beliebigem Durchmesser (1—3 Cm.) mit Asphaltlack auf dem Objektträger. Ein Deckglas schliesst mit Hilfe von Fett die Zelle luftdicht ab. Eine dünne Schicht von Wasser liegt an dem Boden der Kammer, das Objekt hängt an der unteren Fläche des Deckglases.

Soviel ich in der Litteratur gesehen habe, sind die oben genannten Forscher diejenigen, die in die Thierhistologie die Konstruktion der feuchten Kammer zuerst eingeführt haben. Aehnliche Anordnungen für mykologische und bakteriologische Zwecke scheinen von den Forschern auf diesen Gebieten ganz selbständig ausgedacht worden zu sein.

Die erste Angabe in der botanisch-bakteriologischen Litteratur über eine feuchte Kammer finde ich bei DUCLAUX[6]) 1863, also ungefähr gleichzeitig mit der Erfindung der RECKLINGHAUSEN'schen Kammer. Eine kleine »Cuve de brai« wird unter das Mikroskop placirt. Dieser Kasten ist in drei kleine Kammern getheilt, die durch permeable Wände von einander geschieden sind. Die mittlere von diesen enthält das Objekt in der Nahrungsflüssigkeit und wird durch eine Glasplatte verschlossen. Die beiden seitlichen Zellen sind nur mit der Nahrungsflüssigkeit gefüllt und stehen mit der Luft offen in Verbindung.

Eine feuchte Kammer von ganz derselben Konstruktion wie die von KÜHNE-BOETTCHER wurde dann in die botanische Technik von VAN TIEGHEM und LEMONNOIR[7]) eingeführt.

PASTEUR[8]) brauchte bei seinen mykologischen Beobachtungen kleine runde Glasschalen, auf deren Boden die Vegetationen in der Nährflüssigkeit sich befanden und die durch Glasscheiben zu geschlossenen Kammern verwandelt wurden. Untersucht wurde von unten durch besondere Mikroskope.

Die erste Angabe über eine sehr praktische und wichtige Konstruktion der feuchten Kammer finde ich bei ROBERT KOCH, in dessen epochemachenden »Untersuchungen über Bakterien« COHN's Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. 2, 1876. Um die Entwicklung des Bacillus Anthracis auf dem Mikroskoptisch verfolgen zu können, benutzte er den MAX SCHULTZE'schen heizbaren Objekttisch und als feuchte Kammer einen gewöhnlichen Objektträger, dessen obere Seite mattgeschliffen und mit einer sphärischen Aushöhlung von 14 Mm. Diameter und 1,5 Mm. Tiefe versehen war. Das Deckglas liegt über dieser Aushöhlung mit dem Objekt in dem hängenden Tropfen an dessen unteren Seite und wird mit etwas Oel an dem Objektglas fixirt.

Ohne Zweifel ist KOCH's feuchte Kammer diejenige, die am meisten gebraucht wird. Wie aus dem Vorhergehenden deutlich hervorgeht, ist das Neue in der KOCH'schen Einrichtung das, dass er das von KÜHNE in die Konstruktion der feuchten Kammer aufgenommene Princip: Untersuchung im hängenden Tropfen, mit dem schon lange bekannten, aber für andere Zwecke gebrauchten ausgehöhlten Objektträger verband. Der berühmte französische Optiker CHARLES CHEVALIER[9]), der Verfertiger der Instrumente, mit welchen EHRENBERG seine bekannten Untersuchungen über die Organisation der Infusorien ausführte und DUJARDIN die Cilien entdeckte, hat eine mikroskopische Technik herausgegeben, in der, so viel ich weiss, die hohlen Objektträger zum erstenmal besprochen worden sind. »Zuweilen,« sagt er, »schleift man eine kleine Vertiefung in einen Glasstreifen, worin man das Objekt legt, deckt dieselbe mit einem anderen Plättchen zu und verklebt dasselbe mit Papier.« Seitdem wurden sie immer mehr gebraucht, wenn es galt, dicke Objekte für die mikroskopische Beobachtung einzuschliessen.

Nach dieser Darstellung von den principiell wichtigsten Punkten in der Geschichte der Entstehung der feuchten Kammer füge ich jetzt die Beschreibung einiger wichtigen Formen von solchen zu.

DE BARY's feuchte Kammer[10]) bestand aus einer dicken Glasplatte mit kreisförmiger Rinne versehen, in welche der krumme Rand eines Deckels von Deckglasdicke übergreift.

v. RECKLINGHAUSEN's neue feuchte Kammer ist von dem geschickten Glasbläser GEISSLER angefertigt worden und besteht aus einem runden Kammerraum aus deckglasdickem Glase, der an einer Seite flach, an der anderen so weit vertieft ist, dass die Ober- und Unterseite in der Mitte einen kapillaren Zwischenraum begrenzen. Zu dem Kammerraum führen ein Zu- und ein Ableitungsrohr, die gerade einander gegenüber einmünden. Durch diese Rohre werden die Objekte und die Untersuchungsflüssigkeit in die Kammer eingeführt. Sie können auch als Gasleitung dienen.

KLEBS' feuchte Kammer ist nach demselben Princip wie eine von KÜHNE schon 1865 konstruirte Gaskammer gemacht, welche unten beschrieben wird. Seine Kammer ist, wie die neue v. RECKLINGHAUSEN'sche, von GEISSLER geblasen und besteht aus einem ca. 20 Cm. langen Rohr, welches in der Mitte zu einer kreisrunden niederen Zelle mit planparallelen Wänden von der Dünnheit eines Deckglases ausgeblasen ist. Man füllt das Rohr mit der Nahrungsflüssigkeit und, nachdem diese herausgenommen ist, bleibt immer eine dünne Schicht zurück, die an der unteren Seite der oberen Fläche ausgebreitet ist und jetzt von oben untersucht werden kann.

BREFELD[11]) giebt bei seinen mykologischen Studien dieser Kammer den Vorzug.

STRICKER[12]) konstruirte eine feuchte Kammer, indem er auf den gewöhnlichen Objektträger einen Ring von Glaskitt aufsetzte und das Deck-

glas mit dem Objekte auf der unteren Seite auf diesen Ring legte. Ein Tropfen Wasser an dem Boden der Kammer hielt diese feucht.

THANHOFFER's [13]) feuchte Kammer — schon 1872 konstruirt — besteht aus einem Objektträger mit einer runden oder viereckigen eingeschliffenen Rinne, welche einen Theil des Objektträgers begrenzt, der etwas niedriger als dessen obere Fläche ist. Ueber der Rinne liegt das Deckglas entweder ganz lose oder in eine feine Fuge eingefügt.

Eine sehr praktische feuchte Kammer verdanken wir STRASSBURGER. [14]) Man schneidet aus gewöhnlicher Pappe einen Rahmen, der in der Mitte einen Ausschnitt von viereckiger oder runder Form hat und kleiner als das Deckglas ist. Dieser Rahmen wird in Wasser gelegt, bis er sich vollsaugt, und dann auf den Objektträger festgedrückt. Ueber den Ausschnitt kommt das Deckglas mit dem hängenden Tropfen, und nun ist die Kammer fertig. Ihre Feuchtigkeit kommt von der Pappe her, und um diese zu behalten, bringt man dann und wann einige Tropfen Wasser an den Papprahmen.

RANVIER [15]) empfiehlt, eine Kammer so zu machen, dass man auf einen Objektträger 1 Cm. breite Glasstreifchen mit Terpentinharz aufkittet, um einen rechtwinkeligen Raum einzuschliessen. In der Mitte der so gebildeten Zelle wird ein kleines viereckiges Glasstück so festgekittet, dass zwiscben dem Rande der Zelle und dem Glasstück selbst eine kleine Rinne offen gelassen wird. Seine Dicke muss ungefähr $^1/_{10}$ Mm. weniger betragen als die Höhe des Randes der Zelle. Auf die Oberfläche dieses Stückes wird das Objekt gelegt. Das aufgelegte Deckglas ruht auf dem Rande der Zelle, wo man es mit Paraffin festkittet. Gewöhnlich benutzt man wohl einen nach RANVIER's Vorschlag besonders zubereiteten Objektträger, welcher eine ringförmige Rinne trägt. Der innerhalb der Rinne befindliche Theil des Objektträgers ist 0,5 bis 1 Mm. niedriger als die Ebene des Objektträgers, und hier ruht das Objekt.

MALASSEZ [16]) bediente sich eines Objektträgers, welcher mit einer kreisrunden Rinne von 1,5 Mm. Breite und 1 Mm. Tiefe versehen war und einen inneren Durchmesser von 7,5 Mm. hatte. Das Deckglas ruht dort auf Schrauben und kann hierdurch gehoben und gesenkt werden, wodurch sich das Volum der Kammer verändern lässt. Das Objekt ruht auf dem durch die Rinne abgegrenzten Theil des Objektträgers, und ein Tropfen Wasser, an das Deckglas gebracht, bewirkt einen luftdichten Abschluss, ohne das Präparat zu beschädigen, da das Wasser die Rinne nicht überschreiten kann.

Einer ähnlichen Einrichtung wie die KÜHNE-BÖTTCHER'sche Kammer bediente sich SELENKA [17]) bei seinen Untersuchungen über die Echiniden-Larven. Die Kammer bestand aus einem ca. 3 Mm. dicken Spiegelglasringe von ca. 40 Mm. Durchmesser, welcher durch einen zufliessenden Tropfen Seewasser an dem Objektträger fixirt wurde. Auf den Boden der Kammer wird ein anderer Tropfen gegossen. Das Deckglas trägt auf der unteren Seite im hängenden Tropfen die untersuchten Larven und wird auch mit Wasser an dem Ringe fixirt. Die Larven halten sich lebend einen halben oder ganzen Tag.

Unter dem Namen SELENKA-F. E. SCHULTZE's feuchte Kammer wird in der Litteratur [18]) eine Einrichtung beschrieben, welche aus einem Objektträger mit kreisrunder Rinne besteht. Auf diesem ruht ein anderer Objektträger mit einem konisch nach unten sich erweiternden Loch, das genau die Rinne umfasst. Ueber das Loch kommt das Deckglas mit dem hängenden Tropfen.

HANSEN's [19]) feuchte Kammer besteht aus einem Objektträger, welcher in der Mitte mit einem kreisrunden Loch versehen ist. Dieses ist von einem Ringe umgeben und in einiger Entfernung von diesem befindet sich ein zweiter, etwas höherer Ring, dessen Oeffnung durch eine Glasplatte verschlossen ist, und dessen Wand von zwei Luftröhren durchbohrt ist. Zwischen den beiden Ringen befindet sich das Wasser, das für die Feuchtigkeit der Kammer sorgt. Das zu untersuchende Objekt liegt auf der oberen Seite eines Deckglases, das mit Vaselin unter der erstgenannten kreisrunden Oeffnung angebracht wird. Es wird daher von unten mit einem »Microscope renversé« von NACHET in Paris untersucht.

LEGAN's [20]) »Life slide« besteht aus einem Objektträger, welcher eine kreisrunde Rinne von 6,5 Mm. Breite hat. Ausserhalb dieser verläuft eine zweite, weniger tiefe. Diese ist dazu

bestimmt, mittels geschmolzenen Wachses das Deckglas luftdicht zu verschliessen. Innerhalb des von der Rinne umgebenen Raumes liegt der zu untersuchende Tropfen.

Hayem[21]) benutzt bei seinen Blutuntersuchungen eine Kammer von folgender Zusammensetzung. Auf einen durchaus ebenen Objektträger ist in der Mitte ein dünnes Glasplättchen festgekittet, das mit einem kreisrunden Ausschnitt von 1 Cm. Durchmesser versehen ist. Sowohl diese Scheibe wie das bedeckende Deckglas muss durch Schleifung absolut eben gemacht werden. Die Höhe der Kammer, d. h. die Dicke des festgekitteten Deckglases beträgt bei einigen Objekten 0,2 Mm., bei einer zweiten Reihe 0,1 Mm. Der zu untersuchende Bluttropfen darf die Kammer nicht ganz ausfüllen.

Pfeffer[22]) beschreibt viele Anordnungen für feuchte Kammern. Ein Objektträger, dessen kreisförmige Durchbohrung durch ein aufgekittetes Deckglas geschlossen ist, wird auf einen zweiten, ebenfalls abgeschliffenen Objektträger mittels schwer schmelzbaren Fettes luftdicht aufgesetzt und durch starke Kautschukringe fest angepresst. In der so erhaltenen Kammer wird ein Luftwechsel herbeigeführt, indem ein Glasröhrchen den oberen Objektträger durchbohrt und mit der Kammer kommunicirt. Eine andere Kammer besteht aus zwei durchbohrten Nickelplatten von den Dimensionen der gewöhnlichen Objektträger. Zwischen diesen liegt ein Gummiring, welcher den Raum der Durchbohrungen umschliesst. Dieser Raum wird dadurch geschlossen, dass zwei Deckgläser zwischen den Nickelplatten und dem Gummiring eingefügt werden. Zwei Schraubklammern halten die ganze Einrichtung zusammen.

Braatz'[23]) feuchte Kammer zur Untersuchung anaërober Bakterien im hängenden Tropfen besteht aus einem Objektträger mit einem festgekitteten Ringe. Unter dem Objektträger sitzt ein niedrigerer Behälter, welcher durch ein Rohr, das den Boden der feuchten Kammer durchbohrt, mit diesem kommunicirt. Der Behälter enthält Pyrogallollösung, welche den Sauerstoff der Kammer, die durch ein festgedichtetes Deckglas geschlossen wird, absorbirt.

Die oben besprochenen »feuchten Kammern« repräsentiren bei weitem nicht alle die in der Litteratur vorkommenden. Der Raum gestattet hier nicht alle diese anzuführen. Einige sind auch von so einfacher Konstruktion, dass ihre Zusammensetzung nur zu den gewöhnlichen kleinen Laboratorienhandgriffen gerechnet werden kann. Andere sind nur ganz einfache Modifikationen der schon bekannten. Die oben genannten Autoren sind herausgegriffen worden, theils weil sie die verschiedenen biologischen Wissenschaften repräsentiren, und theils weil sie sich um die Erfindung des principiell Wichtigsten in der Konstruktion der feuchten Kammer verdient gemacht haben. Wer noch mehr über die verschiedenen Vorschläge zu den einfacheren feuchten Kammern erfahren will, sei auf die Jahrgänge des Journal of the royal microscopical Society hingewiesen.

Im Zusammenhang mit den feuchten Kammern müssen auch die sog. Mikro-Aquarien besprochen werden.

Das Aquarium-Mikroskop von F. E. Schultze[24]) besteht aus einem horizontal und in drei Richtungen beweglichen Mikroskop-Tubus, mit welchem man ein dünnes, vertikal gestelltes Aquarium untersucht. Dies besteht aus einem Rahmen von schwarzgebeiztem Messing, in dem eine entsprechend grosse Küvette von Deckglasplatten eingeschlossen ist. Ein Hohlspiegel wirft das Licht durch das Aquarium, welches auch mit Blendvorrichtungen versehen ist.

Das Objekttischaquarium von Cori[25]) wird mittels Klammern auf den horizontal umgelegten Mikroskoptisch befestigt (Fig. 53). Es besteht aus dem eigentlichen Aquarium und einem Träger. Jenes besteht aus einem ⌴förmig gebogenen Glasstreifen von 8 Mm. Breite, auf welchem zwei Deckgläser im Format von 30:40 Mm. so mit Kanadabalsam festgekittet werden, dass eine Kammer von 9 Cm. Fassung gebildet wird. Der Träger besteht aus einer Metallplatte von 4:9 Cm. Dimension, mit einem Ausschnitt, über welchen der Glaskasten in einen Rahmen von Blechstreifen fixirt wird.

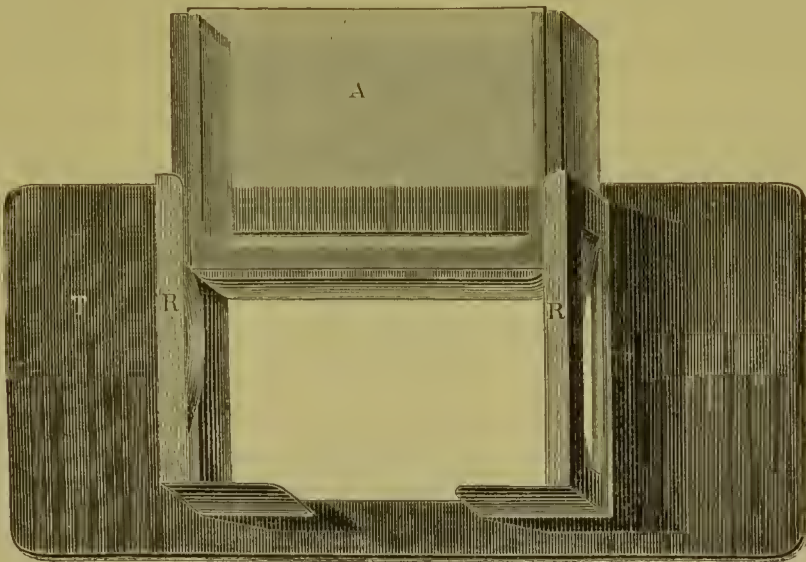
Sehr vorzüglich für die Beobachtung kleiner lebender Objekte ist auch der Objektträger von Cori.[26]) Dieser besteht aus einer oblongen 9 Cm. langen und 4 Cm. breiten Messingplatte mit einem rechteckigen Ausschnitt von den Dimensionen 30:35 Mm. in der Mitte. Auf zwei Falzen im Ausschnitte liegt das Deckglas, welches das Objekt trägt. Ueber dieses wird ein zweites Deckglas mit Wachskügelchen befestigt und das Ganze wird durch eine von der Seite verschiebbare Platte zusammengehalten.

Ein principiell ähnlicher Objektträger von Aluminium ist von M. Heidenhain [27]) konstruirt und von der Firma Karl Zeiss zum Preise von 2 Mark auf den Markt gebracht worden.

Das Mikroaquarium von Schaudinn [28]) scheint von grossem Nutzen zu sein, wenn es gilt, kleine lebende Objekte zu untersuchen. Es besteht aus einem gewöhnlichen Objektträger, in den man von der Längsseite einen viereckigen Einschnitt eingeschliffen hat. Auf beide Flächen des Objektträgers werden über dem Einschnitt Deckgläschen mit Kanadabalsam festgekittet und so eine kleine, von der Seite offene Kammer gebildet. Zu beiden Seiten der Deckgläser kittet man schmale Glasstreifen als Schutzleisten auf. Der Objektträger kann horizontal auf den Objekttisch des Mikroskopes gelegt werden, weil infolge der Kapillarität kein Wasser herausfliesst. Zur Lüftung des Aquariums benutzt man grüne Algen oder leitet mittels Wollfäden frisches Wasser durch dasselbe.

Viele Untersuchungen der lebenden Objekte fordern nothwendig eine Durchströmung frischen Wassers, und dies hat zu der Konstruktion

Fig. 53.



komplicirterer Apparate geführt. Solche sind auch sowohl von zoologischen wie botanischen Forschern vorgeschlagen worden.

Rhumbler [29]) bediente sich bei seinen Infusorienuntersuchungen der folgenden Einrichtung. Auf dem Objekttisch steht ein schmales Reagenzglas, mit Wasser oder Nährflüssigkeit gefüllt. Ein zweimal rechtwinkelig gebogenes Kapillarrohr steht mit dem einen Ende im Wasser, mit dem anderen an dem Rande des Deckglases. Durch dieses Rohr fliesst also ein Strom nach dem Präparat hin und durch die Verwendung von sehr feinen derartigen Rohren lässt sich der Zufluss so reguliren, dass nur das Wasser ersetzt wird, das am Deckglasrande unaufhörlich verdunstet. Um die Nährflüssigkeit zu lüften, wurden Luftbläschen von einer Kochflasche, deren Luftinhalt unter erhöhtem Drucke steht, durch ein anderes feines Kapillarrohr in dieselbe hineingepresst.

Pagan's [30]) »Crowing Slide« hat folgende Zusammensetzung: Der Objektträger wird von einem Stück Löchpapier bedeckt. In diesem ist ein rundes Loch ausgeschnitten, in dem das Objekt in einer Wasserschicht unter dem Deckglas liegt. Zu dieser Kammer leitet ein Kanal, welcher auch im Papier ausgeschnitten ist. In diesen Kanal tröpfelt das Wasser von einem Heber, der mit einem höher stehenden Wassergefäss in Verbindung steht. Von der entgegengesetzten Seite der Kammer fliesst das Wasser längs eines Streifens von Löschpapier, das in ein niedrig stehendes Gefäss eintaucht.

SCHÖNFELD[31]) modificirte die von PAGAN angegebene Einrichtung. Ein Objektträger von gewöhnlichem Aussehen, aber von solcher Länge, dass er auf beiden Seiten über den Objekttisch hervorragt, wird mit einem Streifen Fliesspapier bedeckt, das in der Mitte mit einem viereckigen Ausschnitt versehen ist. Auf der einen Seite tropft das Wasser vermittels eines feinen Haarrohres aus einem höher gestellten Gefässe nieder. Auf der anderen Seite ist der Papierstreifen in eine spitze Zunge ausgezogen, die in einen Wassertopf eintaucht. Durch diese Einrichtung strömt ein konstanter Strom von frischem Wasser durch die Kammer.

Besondere Aufmerksamkeit verdient eine sinnreiche Methode, die von I. AF KLERCKER[32]) erfunden ist, um lebende Organismen unter dem Mikroskope zu kultiviren. Auf einem Objektträger von englischem Format sind in einer Entfernung von 5 Mm. von einander und parallel mit der Längsseite des Glases zwei dünne, schmale Glasleisten mittels Kanadabalsam festgekittet. In die so erhaltene Rinne wird das Objekt gebracht und mit einem Deckglase bedeckt. In die Rinne zwischen dem Objekt- und Deckglas sind zwei Leinwandstreifen eingeschoben, so dass ein Theil von ihnen sich ausserhalb des Deckglases befindet. Das Ganze wird durch zwei schmale Kautschukringe zusammengehalten. Der so bereitete Objektträger ruht auf einem anderen und wird durch weisse Wachskügelchen mit ihm verbunden. Das Wasser fliesst aus einem grossen Becherglase, dessen Rand den Objekttisch des Mikroskopes um 5 Cm. überragt, durch einen zweimal gebogenen Heber, in den ein Leinwandstreifen so eingepasst ist, dass das Wasser nur tropfenweise ausfliesst. Dieser Streifen berührt den einen von den in der Wasserkammer steckenden Streifen und bewerkstelligt also den Zufluss. Der Abfluss erfolgt in gleicher Weise durch einen Leinwandstreifen, welcher den anderen unter dem Deckglase eingesteckten Streifen berührt und in ein unter dem Niveau des Objekttisches stehendes Becherglas eintaucht. Die Stromgeschwindigkeit des Wassers lässt sich theils durch die Stellung des Wasserreservoirs, theils durch festeres oder loseres Einzwängen des Leinwandstreifens in den zuführenden Heber reguliren.

A. SCHEFFEL[33]) veränderte die KLERCKER'sche Wasserkammer so, dass er statt der Kautschukringe das Deckglas mit zwei Kügelchen Terpentinharz befestigte, wodurch man das untere Objektglas entbehren kann.

Unter dem Namen Kompressorium verstand man in der älteren histologischen Technik Instrumente, deren Zweck es war, die Objekte durch allmählich wirkenden Druck in einen solchen Zustand von Dünnheit zu bringen, dass sie im durchfallenden Lichte untersucht werden konnte. Ihre allgemeine Konstruktion war die folgende: Sie bestanden aus zwei Platten, welche gegen einander durch eine Schraube gepresst werden konnten. Sie sind in der Mitte von Löchern durchbohrt, in die dünne Gläser eingefügt wurden. Zwischen diese kommen die Objekte und durch Zusammenschrauben der Platten werden sie auf einmal fixirt und ausgebreitet. Diese alte Idee bildet die Grundlage für einen modernen Apparat, welche ganz besonders geeignet ist, die Aufmerksamkeit der Biologen auf sich zu ziehen, wenn es gilt, kleino lebende Objekte in ihren natürlichen Medien zu untersuchen. Ich meine das Durchströmungskompressorium von H. E. ZIEGLER.[34])

Es findet seine Anwendung bei der »Untersuchung kleiner Würmer, pelagischer Larven und anderer kleiner durchsichtiger Objekte, besonders auch beim Studium der Furchung und bei entwicklungsmechanischen Experimenten« (Fig. 54). Der Erfinder beschreibt zwei Instrumente dieser Art. Das kleine Kompressorium besteht aus zwei Metallplatten: einor unteren runden und einer oberen dreieckigen. Beide haben in ihrer Mitte ein rundes Loch. In demjenigen der unteren Platto .ist eine Glasscheibe festgekittet, welche als Objektträger dient. In dem Loche der oberen Platte sitzt ein Deckglas, das mit Paraffin befestigt ist. Zwischen den beiden Platten befindet sich ein Kautschukring, welcher eine abgeschlossene Zelle zwischen den beiden Platten bildet. Die beiden Platten werden durch drei Schrauben

zusammengehalten. Durch die auf obengenannte Weise gebildete Zelle fliesst Wasser, indem die obere Platte mit einem zu- und einem abführenden Rohre versehen ist.

Das Durchströmungskompressorium der zweiten Form ist nach demselben Princip gebaut. Es dient zur Aufbewahrung grösserer Beobachtungsobjekte, z. B. Froschlarven oder kleiner Fische. Es hat eine rechteckige Gestalt und weicht in den Details von jenem etwas ab. Der Preis für die beiden Durchströmungskompressorien ist 22, bezw. 28 Mark. Sie sind zu haben bei der Firma Hermann Elbs, Werkstätte für Präcisionsinstrumente in Freiburg im Breisgau.

Im Zusammenhang mit dem Durchströmungskompressorium sind auch Einrichtungen erdacht, um das Beobachtungsmedium auf einer höheren bestimmten Temperatur zu halten. Kantorowicz[35]) schlägt so vor, die Flüssigkeit in einem Glascylinder zu erwärmen, welcher mit einem Regulirungsapparat für konstante Temperatur versehen und übrigens so konstruirt ist, dass nur eine kleine Menge Wasser erwärmt wird, damit das Wasser nicht zu viel Luft verliere. Ziegler erhielt dasselbe Resultat dadurch, dass er die Durchströmungsflüssigkeit durch ein langes Spiralrohr fliessen liess,

Fig. 54.



das von erwärmtem Wasser von bestimmter Temperatur umgeben war. Ein kleines, in das Abflussrohr eingesetztes Thermometer zeigt die Temperatur.

Gaskammern.

Das Bestreben der Forscher, den Einfluss, welchen verschiedene Gase auf die Zellenelemente, vor allem auf die Blutkörperchen ausüben, kennen zu lernen, führte zu der Konstruktion der Gaskammer. Sie ist den feuchten Kammern im allgemeinen ähnlich gebaut und nur darin verschieden, dass zu- und ableitende Röhren sich in der Kammer öffnen, wodurch die Gase von einem Gasentwicklungsapparat durch diese geleitet werden können.

Harless'[36]) Einrichtung scheint die älteste zu sein. Sie wurde aus zwei Glasplatten zusammengesetzt, die übereinander gelegt und durch Korkplatten an ihren Rändern so von einander geschieden wurden, dass ein Spaltraum von 0,5—1 Mm. zwischen den Platten entstand. Zwei knieförmig gebogene Glasröhren durchbohren die Korkwände der Kammer. Vorhandene Oeffnungen werden durch Wachs gedichtet.

Kühne's Gaskammer[37]) besteht aus einem von Geissler geblasenen Glasgefässe. Dasselbe ist ein niedrigerer, kreisrunder, von planparallelen Wänden begrenzter Glaskasten, dessen obere Fläche so dünn und eben ist, dass sie eine Untersuchung auch mittels der stärksten Vergrösserungen gestattet. Einander gegenüber münden zwei Glasröhren, eine kurze gerade und eine längere, zweimal rechtwinkelig gebogene Röhre. Auf den Boden der Kammer bringt man Wasser und auf die untere Seite der oberen Fläche einen Tropfen Blut.

Böttcher's Gaskammer[38]) hat dasselbe Aussehen wie seine feuchte Kammer, in die zwei Röhren eingesetzt sind.

Huizinga's[39]) Gaskammer ist ungefähr wie die vorige konstruirt.

HEIDENHAIN's [40]) Gaskammer besteht aus einem Metallkästchen, welches oben und unten mit Glasplatten verschlossen ist. An zwei Seiten sind Metallröhren eingefügt.

ENGELMANN's Gaskammer [41]) besteht aus einem Kästchen von 80 Mm. Länge, 42 Mm. Breite und 6 Mm. Höhe, dessen Seitenwände von Messing und der Boden von einer Glasscheibe gebaut ist. Auf einem 1 Mm. breiten, stufenartigen Ausschnitt der Seitenwände ruht ein Messingdeckel, der in der Mitte mit einem kreisrunden Loch von 15 Mm. Durchmesser versehen ist. Das Loch ist nicht cylindrisch, sondern nach unten konisch, wodurch man das auf der unteren Seite des Loches sitzende Präparat in grösserer seitlicher Ausdehnung untersuchen kann. In dem Loch nämlich wird auf der unteren Seite des Deckels das Deckglas festgekittet, das im hängenden Tropfen das Präparat trägt. Der Rand des Deckels wird mit etwas Fett in der Einfassung fixirt oder im Falle grösseren Druckes in der Gaskammer mit Metallklammern fixirt. In der Mitte von jeder der zwei kürzeren Seitenwände ist eine Messingröhre von 4 Mm. Dicke und 3 Mm. Lumen eingeschraubt, durch welche die Gase zu- und abgeführt werden. Die Gaskammer kann auch auf dem MAX SCHULTZE'schen Objekttisch untersucht werden, und elektrische Reizung kann man auch ausführen, indem man den Deckel mit kleinen cylindrischen Durchbohrungen versieht, durch welche die Elektroden eingesteckt werden.

Die Anordnung von ROLLET [42]) bei seinen Versuchen über die Einwirkung verschiedener Gase auf die Blutkörperchen verdient besondere Aufmerksamkeit. Dieselbe bestand aus einem Gasentbindungsapparat von DEVILLE, einer Gaskammer und einem Gaswechsler. Die Gaskammer bestand aus einer Platte von ausgesuchter dichter Kammmasse von der Grösse eines Objektträgers und einer Dicke von 8 Mm. Diese Platte war von oben nach unten in der Mitte von einem 10 Mm. im Durchmesser haltenden Loche durchbohrt, von rechts nach links liefen feine Bohrungen horizontal gegen diese mittlere Bohrung. Die Platte wurde mit Glaskitt auf einem Objektträger festgekittet. Das genannte Loch wurde zu einer geschlossenen Gaskammer verwandelt, indem ein Ring von Kammmasse, an den ein Deckglas festgesetzt war, auf die über dem Objektträger befindliche Platte mit Fett fest aufgedrückt wurde. In die seitlichen Enden der feinen Bohrungen wurden kleine Röhrchen zum Ansatze der Kautschukschläuche eingekittet. Die Schläuche führten zu je einem Gabelrohr, dessen zwei Enden mit zu- resp. ableitenden Schläuchen verbunden wurden. Der Gaswechsler besteht aus hebelartig angeordneten Kupferplatten, welche um eine Axe hin und her bewegt werden konnten und bald das eine, bald das andere der unter ihnen liegenden Kautschukröhren zusammendrückten, wodurch das Gas bald aus dem einen, bald aus dem anderen Rohre in die mit dem Apparate verbundene Gaskammer gelangt. Hinsichtlich der Details sei auf das Original hingewiesen.

STRICKER's [12]) Gaskammer in ihrer einfachsten Form ist wie seine feuchte Kammer konstruirt, nur mit dem Zusatze, dass zu- und abführende Gasrohre den Kittwall durchbohren.

STRICKER beschreibt auch eine Gaskammer von weiter entwickelter Konstruktion. Sie besteht aus einem Objektträger von Hartgummi, dessen Mitte durchbrochen und an dessen einer Fläche eine Glasplatte eingesetzt ist. Um diese Glasplatte ist in dem Hartgummi eine Rinne eingegraben und mit Quecksilber gefüllt. In dieser Rinne steckt der Rahmen eines Deckglases, das die Form eines Schachteldeckels besitzt. In der Platte verlaufen von entgegengesetzter Seite zwei Rohre, welche die Gase ab- und zuleiten. Siehe auch die von STRICKER konstruirten, heizbaren Gaskammern.

CLASON [43]) empfiehlt eine Gaskammer von Glas, nach demselben Princip gebaut, wie die von BÖTTCHER und HUISINKA. Gegen die von STRICKER konstruirten Gaskammern hebt er hervor, dass sowohl der Glaskitt, wie der Hartgummi die Gase aufsaugen und ein Wechsel der Gase in die Kammer dadurch unmöglich wird. Um eine mit Heiztisch verbundene Gaskammer zu erhalten, ersetzte er in dem Heiztisch von STRICKER das Kupfer in den Röhren und der Kammerhülse durch Stahl, weil das Kupfer von vielen Gasen angegriffen wird, und

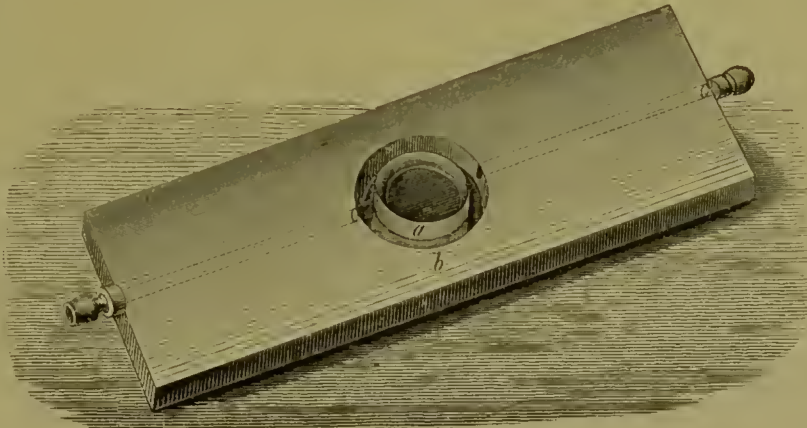
richtete dieselbe im übrigen wie die Stricker'sche Gaskammer mit Quecksilberrinne und Deckglasdeckel ein.

Pringsheim's[49]) Gaskammer scheint im Principe den von Engelmann eingeführten ähnlich zu sein. Es ist also ein niedriger Metallkasten, in dessen untere Seite eine Glasscheibe eingefügt ist. Das Deckglas ist in ein Loch in dem Deckel fest eingefügt, der durch Metallarme mit dem Kästchen sehr fest verbunden ist.

Ranvier's [15]) Gaskammer besteht aus einer Messingplatte von der Dimension und Form eines gläsernen Objektträgers. (Fig. 55.) In der Mitte dieser Platte ist eine Glasscheibe so eingesetzt, dass zwischen ihrem Rande und dem Loch in der Metallplatte eine kreisförmige Furche entsteht. Zwischen der Glasscheibe und dem Deckglas ist ein Zwischenraum von $^1/_{10}$ Mm. Höhe. Es sind ferner in die Messingplatte zwei Kanäle gebohrt, die sich in die Rinne öffnen und nach aussen mit Kautschukröhren in Verbindung stehen.

Nachet's Gaskammer ist ebenso wie die von Ranvier, nur dass die untere Glasplatte, auf der das Objekt ruht, gehoben und gesenkt werden kann.

Fig. 55.



Lopriore[45]) benutzte eine Gaskammer, deren ursprüngliche Konstruktion von Professor Kny angegeben war. Sie besteht aus einer kreisrunden Dose von starkem Messing. Sie wurde je nach dem Versuchsobjekt in verschiedener Grösse vom Mechaniker Himmler in Berlin angefertigt. Ihren Boden bildet eine planparallele, gut eingepasste und luftdicht angekittete Glasplatte. Die vertikale Metallwand trägt an dem oberen Theile der Innenwand ein sorgfältig geschnittenes Gewinde, welches dazu bestimmt ist, einen Metalldeckel aufschrauben zu lassen, in dessen Mitte sich ein geschliffenes, sorgfältig eingepasstes und mittels eines Lackringes gedichtetes Deckglas befindet. Der dem Deckglase als Rahmen dienende Deckeltheil überragt mit seinem zur leichteren Handhabung fein gerippten Rande die aufsteigende Kammerwand und trägt an seiner Unterseite eine die sichere Dichtung des aufgeschraubten Deckels bewirkende Lederscheibe, welche nach Bedürfniss von Zeit zu Zeit mit Paraffinöl benetzt wird. Der Gebrauch ist wie der einer gewöhnlichen feuchten Kammer. Das Präparat kommt im hängenden Tropfen an die Unterseite des Deckglases, und eine dünne Schicht destillirten Wassers bedeckt den Boden der Kammer. Zum Durchleiten dienen zwei etwa 6 Cm. lange, einander gegenüberstehende Messingröhren. Die Gaskammer wird durch eine gleichfalls vom Mechaniker Himmler angefertigte Klammer auf dem Objekttisch fixirt. Da die genannte Kammer nur zu Versuchen von kürzerer Dauer 8—14 Tage benützt werden kann, wurde eine andere Gaskammer konstruirt, um die Objekte eventuell Monate lang einem annähernd stationären Gasstrom auszusetzen. Diese Kammer bestand aus einem runden Gefäss von grösseren Dimensionen (6 Cm. Höhe und 10 Cm. Durchmesser), welches eine Halsöffnung in der oberen Wand trug. Ausserhalb des Halses verlief eine mit Quecksilber gefüllte Rinne und in diese reichte der Rand des deckelförmigen Deckglases, welches durch eine besondere Klemmeinrichtung fixirt wurde.

Die feuchte Kammer von Fritsch besteht aus einem Objektträger mit einer ausgeschliffenen Glasglocke, welche zwei Zu- und Ableitungsröhren für Gase besitzt.

Vorrichtungen zur Untersuchung der Gewebe von kaltblütigen Thieren im lebenden Zustande.

Wie bekannt ist es Malpighi's unvergängliches Verdienst, den Schlussstein in der Harvey'schen Lehre von der Blutcirkulation gefunden zu haben,

als es ihm gelang, auf dem Wege der direkten Beobachtung den Uebergang des Blutes zwischen den Arterien und Venen, d. h. den Kapillarkreislauf zu entdecken. MALPIGHI's Objekt, die Froschlunge, ist seitdem das klassische Untersuchungsmaterial geworden, welches kein histologischer Kursus entbehren kann, da es eines der schönsten Bilder, das man mit dem Mikroskope beobachten kann, demonstrirt.

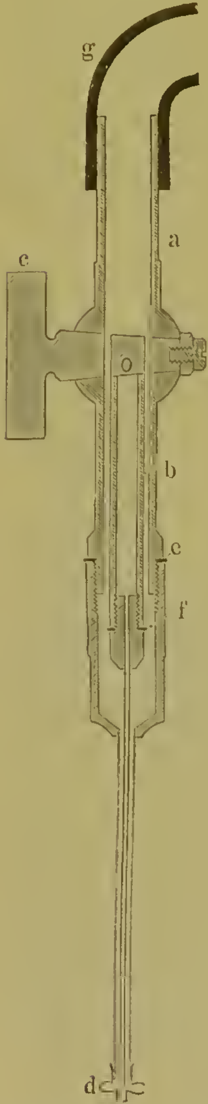
Der beste Apparat, der dabei benutzt werden kann, ist der von FRITHIOF HOLMGREN[46]) erfundene. Sein Verfahren ist das folgende: Die Lunge von Rana esculenta bildet das vorzüglichste Objekt. Nach dem Kurarisiren des Frosches macht man einen Schnitt durch die Körperwand dicht an der Achselhöhle und zieht die Lunge durch diese Wunde heraus. Jetzt muss die Lunge aufgeblasen und in diesem Zustande beibehalten werden. Die Aufblasevorrichtung wird aus zwei durch einen dünnen Kautschukschlauch von beliebiger Länge verbundenen Messingröhren gebildet. Die eine trägt das Mundstück, welches mit einem Hahn versehen ist, die andere — die Kanüle, welche in die Glottis eingeführt ist — ist mit einer besonderen Einrichtung zum Schliessen der Glottis versehen. Die Kanüle ist nämlich an ihrem Ende zu einem die Röhre umgebenden Ringe verdickt, dessen peripherischer Rand rinnenförmig vertieft ist. 2—3 Mm. von diesem Ringe entfernt befindet sich ein zweiter, ganz analoger, mit ähnlicher Rinne versehener Ring. In der Einsenkung zwischen den beiden Erhebungen durchbohren vier auf den Röhrenumfang vertheilte kleine Löcher die Röhren. Auf diesen Theil der Kanüle wird jetzt ein Stück Froschdarm gezogen, mit zwei Ligaturen an den obengenannten Ring festgebunden und bildet auf diese Weise ein geschlossenes Säckchen, das durch Einblasen von der Kanüle aus gespannt werden kann. Das mit dem Darme überzogene Ende der Kanüle wird zu mässiger Tiefe in die Kehlritze eingeführt und die Kanüle an der Mundöffnung des Thieres fest angenäht. Jetzt wird die Luft durch das Mundstück eingeblasen und spannt die Lunge genügend aus, so dass diese für die direkte Beobachtung in durchfallendem Licht geeignet ist. Gleichzeitig füllt sich das oben beschriebene Luftsäckchen, tamponirt die Glottis und hindert die Luft, aus der Lunge zu entweichen. Der Hahn an dem Mundstücke thut denselben Dienst für die im Inneren eingeschlossene Luft. Der Frosch wird jetzt auf ein Brett gelegt, welches die Lungenkammer von folgender Zusammensetzung trägt. Das Brett ist von einem hohlen Messingcylinder durchbrochen, dessen Lichtung ungefähr dieselbe Grösse hat wie der Durchmesser des Loches im Objekttische eines gewöhnlichen Mikroskopes. In den oberen Rahmen dieses Messingcylinders ist ein rundes Deckglas eingesetzt, auf dem die Lunge ruht. Ueber diesem Deckglas befindet sich ein anderes in einem horizontal gestellten Ringe eingefügt, welcher auf einer vertikal gestellten Zahnstange festsitzt, die mittels Trieb auf und nieder bewegt werden kann. Die Lunge kann also zwischen zwei parallele dünne Glasplatten eingelagert werden und eignet sich vorzüglich für direkte mikroskopische Beobachtung auch mit den stärksten Vergrösserungen.

Es steht wohl ausser allem Zweifel, dass ein Präparat, lege artis nach der HOLMGREN'schen Methode gewonnen, das beste Bild von dem Kapillarkreislauf liefert. »Die Erscheinung des Kreislaufes in der Lunge kann durch ihre Schönheit das Auge stundenlang fesseln.« Oft können doch die Versuche misslingen. Besonders deshalb, weil das kleine Luftsäckchen die Glottis nicht genügend tamponirt. Die Darmwand legt sich nicht innig genug an die Larynxwand, sondern lässt die Luft vorbeistreichen. Auf Initiative von WALDEYER hat darum G. ARNDT[47]) eine Modifikation des HOLMGREN'schen Apparates ausgeführt (Fig. 56).

Sein Apparat besteht aus zwei in einander steckenden Metallröhren: die äussere Röhre mit einem Diameter von 2 Mm., die innere mit einem

solchen von 0,9 Mm. Die innere Röhre ragt aus der äusseren 3 Mm. hervor. Die äussere Röhre findet ihren Abschluss durch ein Kautschuksäckchen, welches durch diese aufgeblasen werden kann. Mit beiden Röhren ist ein Hahn verbunden, welcher sie beide oder nur eine verschliessen kann. Die Röhren stehen mit einem Kautschukballon in Verbindung. Nach Einführung der Röhre in die Luftwege des Frosches, wobei das Kautschuksäckchen gerade hinter die Stimmritze placirt wird, pumpt man Luft hinein, welche den kleinen Kautschukballon dann prall anfüllt, wonach die äussere Röhre durch Umdrehung des Hahnes geschlossen wird. Die innere Röhre ist noch frei, und durch weiteres Einpumpen strömt hierdurch die Luft in die Lunge hinein und bläht sie auf. Die Haltbarkeit des Säckchens erstreckt sich nur auf einige Monate. Diese Modifikation scheint den HOLMGREN'schen Apparat ganz wesentlich verbessert zu haben.

Fig. 56.



Neben der Lunge des Frosches bilden die Zunge, das Mesenterium und die Schwimmhaut dieses Thieres vorzügliche Objekte, lebende Gewebe zu studiren. Von verschiedenen Forschern sind darum Apparate für diese Zwecke konstruirt.

Um das lebende Mesenterium des Frosches beobachten zu können, bediente sich HERING[48]) des folgenden Verfahrens. Nach Einschnitt in die rechte Bauchseite eines Frosches wird eine Darmschlinge hervorgezogen und auf den Bauch des Frosches gelegt. Dann wird der Frosch auf den Objekttisch in die Nähe eines niedrigen Hohlcylinders aus Messing fixirt, der auf das Objektglas gekittet ist, und dessen obere Oeffnung ein gewöhnliches Deckglas zuschliesst. Unter der Darmschleife schiebt man jetzt ein Deckglas so, dass das Mesenterium innig an dem Glase haftet. Legt man nun das letzterwähnte Deckglas mit der ihm anhaftenden Darmschleife vorsichtig um, so dass es auf das erste Deckglas zu liegen kommt, so befindet sich die Darmschleife zwischen den beiden Deckgläsern, das Mesenterium klebt an der Unterseite des oberen Deckglases und bildet die Decke einer völlig geschlossenen Luftkammer, die unten von dem anderen Deckglase, ringsum von der Darmschleife begrenzt wird. Das Mesenterium ist dann vor Verdunstung, Luftzutritt und Zerrung vollständig geschützt und kann mit den stärksten Vergrösserungen untersucht werden.

THOMA[49]) erfand einen Objektträger, welcher in erster Linie zur Untersuchung der lebenden Froschzunge bestimmt war, doch auch bei der Untersuchung anderer durchsichtiger Organe Anwendung fand. Derselbe bestand aus einer Messingplatte, in die eine viereckige Glasplatte eingefügt war, deren untere Seite in demselben Niveau wie die untere Fläche der Metallplatte lag, während die obere Fläche sich über die obere Ebene der Metallplatte erhob und in solchem Grade geneigt war, dass die Verschiedenheit der Dicke der auf die Platte gespannten Froschzunge dadurch kompensirt wurde. Um die Verdunstung zu vermeiden, wird die Zunge mit einem Strom von einer indifferenten Flüssigkeit irrigirt. Für diesen Zweck ist der Objektträger mit folgender Einrichtung versehen. In einiger Entfernung von der Glasplatte verläuft auf dem Objektträger eine 7 Mm. hohe, geschwärzte Messingleiste, welche bei einer mässigen Neigung des ganzen Mikroskopes die von der Glasplatte abfliessende Flüssigkeit auffängt und

durch zwei Tubuli, welche die Messingleiste durchbohren, ableitet. Auf der Grundplatte sitzen ferner zwei Träger, welche die Kanüle tragen, die die Irrigationsflüssigkeit auf die Zunge leiten. Diese sind sowohl um eine senkrechte wie um eine horizontale Axe beweglich. Im Raume zwischen der Glasplatte und der Messingleiste werden dünne Korkplatten eingeschoben, welche dazu dienen, die Nadeln zu tragen, durch welche die Zunge in ausgespanntem Zustande erhalten wird.

F. E. SCHULTZE[50]) benutzte einen besonders eingerichteten Objektträger, um durchsichtige Theile von Larven oder ganze kleine Thiere zu untersuchen. Der Objektträger hat an der oberen Seite eine Vertiefung, in die der ganze Körper des Thieres nebst Wasser kommt, neben dieser findet sich eine seichtere zur Aufnahme des Schwanzes vor. Die schmale Wand, an die der Kopf stösst, wird abgeschrägt, so dass derselbe in einem Falz ruht, wodurch das Emporheben des Kopfes verhindert wird. Die jetzt beschriebene Vorrichtung verschafft man sich, indem man auf die obere Fläche eines gewöhnlichen Objektträgers zwei Glasplatten mit passenden Ausschnitten durch Kanadabalsam festkittet. Nachdem das Thier in die Vertiefung gebracht worden ist, wird es mit dem Deckglase bedeckt.

Unter dem Namen CATON's Fish-trough wird ein einfacher und, wie es scheint, sehr praktischer Apparat beschrieben[51]), der den Zweck hat, einen lebenden Fisch während der mikroskopischen Beobachtung einzuschliessen und am Leben zu erhalten. Er besteht aus einem konischen Metallkasten, der genau das Thier umgiebt und mit zwei Tubulirungen versehen ist, durch welche stets frisches Wasser cirkulirt. Der Kasten ist auf einer durchlöcherten Scheibe so angebracht, dass der durchsichtige Schwanz z. B. über dem Loch festgehalten werden kann. Der ganze Apparat wird an dem schräggestellten Objekttisch so angebracht, dass der konische Kasten mit der geschlossenen Spitze nach unten gewandt wird.

Auch muss in diesem Zusammenhang noch einmal an das vorzügliche ZIEGLER'sche Kompressorium (oben citirt) erinnert werden, das in seinem gröberen Format dazu bestimmt ist, kleine Thiere während der mikroskopischen Beobachtung einzuschliessen.

Vorrichtungen zur Untersuchung der lebenden Gewebe bei warmblütigen Thieren.

Die mikroskopische Untersuchung der lebenden Gewebe der warmblütigen Thiere komplicirt sich dadurch, dass man die Beobachtungen bei höheren Temperaturen als der gewöhnlichen Zimmertemperatur ausführen muss. Darum ist man gezwungen Einrichtungen zu erfinden, welche es erlauben die betreffenden Objekte bei einer beliebig konstanten und exakt messbaren Temperatur während einer längeren Zeit zu beobachten. Eine weitere an eine solche Einrichtung zu stellende Forderung ist die, dass die Beweglichkeit des Objektes und die Leistungsfähigkeit des Mikroskops keine Einbusse erleiden. Auch ist es nöthig, dass die Temperatur nach Belieben erhöht und erniedrigt werden kann. Alle diese Ansprüche zu erfüllen ist keine leichte Aufgabe. Das bemerkt man sofort, wenn man in der Litteratur die verschiedenen Vorschläge zu Heizapparaten durchmustert.

Verschiedene Forscher haben jetzt verschiedene Principien in die Konstruktion der Heizvorrichtungen eingeführt. Von einfacheren Verfahren ist man zu immer komplicirteren gekommen.

Die ersten Versuche, die Objekte während der Beobachtung zu erwärmen, stammen, so viel ich weiss, von CHEVALIER[9]), SCHWEIGGER-SEIDEL[52]), BEALE[54]) und ROLLETT[53]). Schon 1839 beschreibt CHEVALIER eine Heizvorrichtung, welche aus einer Metallplatte mit centraler Oeffnung bestand, die auf den Objekttisch gelegt wurde. Unter den Enden der Metallplatte hängen zwei kleine Lampen, welche längs vertikaler Stangen verschiebbar sind und die Platte erwärmen. SCHWEIGGER-SEIDEL und ROLLETT brachten das Präparat auf einen gefensterten Streifen von Eisenblech, welcher auf einer Seite über

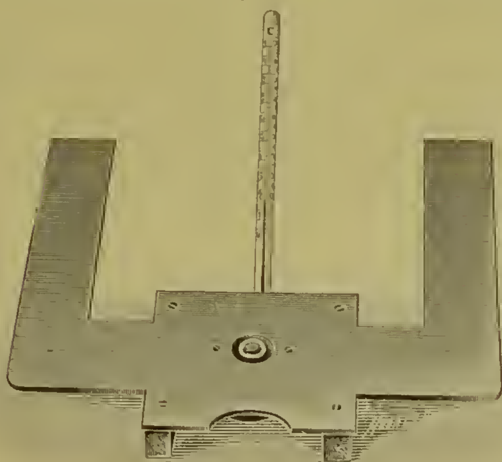
den Objekttisch hervorragte. Unter diesen wurde eine Flamme gesetzt und die Wärme so zum Objekt geleitet. BEALE's [54]) Heiztisch bestand aus einem niederen an den beiden Enden offenen Kupferkasten, welcher in der Mitte mit einem Loch versehen war. In diesem liegt das Präparat. Das eine Ende des Kastens ist nach unten, das andere nach oben gebogen. Eine Spirituslampe erwärmt jenes und die warme Luft strömt dann an dem Objekt vorbei und erwärmt es.

Nach dem Princip von BEALE ist später von SENARMONT [55]) ein Heiztisch konstruirt worden. Derselbe besteht aus einem hohlen Kasten, an dem einen Ende offen und an dem anderen Ende mit einem nach unten offenen Tubus versehen. In diesem steckt eine Lampenflamme, welche einen heissen Luftstrom durch den Kasten treibt. Durch die Mitte des Kastens geht ein Loch. In der unteren Wand ist dieses durch eine Glasscheibe geschlossen, auf der das Objekt ruht. In der oberen Wand ist eine Oeffnung von dem Quecksilbergefäss eines Thermometers umgeben. Der Kasten wird durch eine dünne Scheibe aus Ebenholz von dem Mikroskoptisch isolirt.

Der erste mehr allgemein gebrauchte Heiztisch ist nach dem Princip von SCHWEIGGER-SEIDEL und ROLLETT von MAX SCHULTZE [56]) konstruirt worden.

Sein Heiztisch besteht aus einer hufeisenförmig gebogenen Metallplatte, deren mittlerer Theil die Ausdehnung und Form eines gewöhnlichen Objektträgers hat und in der Mitte mit einem runden Loch versehen ist (Fig. 57). Nach den Seiten läuft dieser Theil in 3 Cm. breite Arme aus, welche nach kurzem Verlaufe rechtwinkelig in die Seitenarme übergehen, die eine Länge von 17—20 Cm. haben. Der mittlere Theil trägt an seiner unteren Fläche, dicht angelagert, ein Thermometer. Auf der unteren Seite sitzen dünnere Holzplatten, welche die Metallplatte von dem Mikroskoptisch isoliren. Unter jedem Seitenarme befindet sich eine Spiritusflamme, welche die Heizung besorgt. Die Länge der Arme ist so gewählt, dass bei Erhitzung ihrer Enden durch kleine Flammen die Mitte des Objekttisches ungefähr Körperwärme, also 35—40° C. annimmt. Durch Regulirung der Flammengrösse soll man beinahe konstante Temperaturen erhalten können. In der letzten Zeit sind Heiztische ganz nach dem SCHULTZE'schen Princip von Dr. ROBERT REYBURN (Amer. Mon. Min. Journ. 1890) und EBERLEIN [57]) konstruirt worden. Da diese keinen eigentlichen Vorzug vor den ursprünglichen SCHULTZE'schen zu haben scheinen, können sie hier übergangen werden.

Fig. 57.



Sehr einfache Heizapparate, in denen die Metallleitung das Princip ist, verdanken wir STRICKER. [12]) Sie bestehen aus einem Kupferring oder einem Kupferstück von der Form eines Objektträgers, in der Mitte durchbohrt. Auf diesen liegt das Objekt. Von ihnen geht ein Stab von Metall aus, welcher von einer Flamme erwärmt wird. Die Temperatur wird ermittelt durch die Schmelzung von kleinen Fettfragmenten, deren Schmelzpunkt bekannt ist, und die Regulirung wird durch die Verschiebung der Flamme längs dem Stabe ausgeführt.

BELL's [58]) Heiztisch besteht aus einer Scheibe von Mahagoni, auf der oberen Seite für den Objektträger in der Länge ausgehöhlt. In der Mitte ist ein Loch, das von einem Kupferring umgeben ist. Dieser steht in Verbindung mit einem Kupferdraht, welcher in die Platte eingegraben ist und von dem einen Ende ausgeht. Er wird durch eine Spiritusflamme erhitzt.

SYMON's [59]) Heiztisch besteht aus einem Kupferblock 6 Cm., 4 Cm., 2 Cm. in Dimensionen und mit einem Loch von 2,5 Cm. Durchmesser versehen. Von der Seite ist ein Kanal eingebohrt, in dem ein Thermometer steht. Das Loch wird in folgender Weise geschlossen:

Von 2 Korkscheiben, die von Löchern durchbohrt sind, entsprechend dem Loche im Kupfer, wird die eine auf die obere, die andere auf die untere Seite des Kupfers gelegt, zwischen diese und das Kupfer werden dünne Glasscheiben eingeschoben und zwischen die untere Korkscheibe und das Kupfer eine längere Kupferscheibe, welche etwas herausreicht. Dies alles wird durch Schrauben festgehalten. Der Raum zwischen den Glasscheiben wird mit Oel gefüllt. Das Kupferstück wird durch eine Flamme erhitzt. Das Objekt liegt auf der oberen Glasplatte.

Der Heiztisch nach der Konstruktion von SCHULTZE ist sehr bequem zu handhaben und darum auch viel benutzt worden. Es haften ihm aber viele Fehler an. Der grösste von diesen ist, wie ENGELMANN[1]) hervorhebt, der, dass die Temperatur des Präparates sehr wesentlich von der Temperatur des Objektives beeinflusst wird. Die Fehler in der Temperaturbestimmung können sogar 20—30° C. betragen.

* * *

Das Problem der Darstellung von Heiztischen mit konstanten Temperaturen hat dann die Mikroskopiker bis in unsere Tage beschäftigt und verschiedene Konstruktionen sind angegeben worden. Einer von den gewöhnlichsten basirt auf dem Princip, dass man das Präparat auf einen Kasten oder dergleichen bringt, der durch fliessendes warmes Wasser erwärmt wird. Wer der erste ist, der einen solchen Heiztisch erfunden hat, kann ich nicht bestimmt angeben. Vielleicht sind viele Forscher selbständig und unabhängig von einander auf diese Idee gekommen. Ich citire in chronologischer Reihenfolge diejenigen, welche ich in der Litteratur gefunden habe.

RANVIER hat schon 1865 einen Heiztisch konstruirt, welcher aus einem rechtwinkligen Messingkästchen besteht. das in seiner mittleren Partie eine horizontale Spalte trägt, um das Präparat einschieben zu können. In der Mitte ist es von oben nach unten von einer Oeffnung durchbohrt, welche das Licht durchgehen lässt und auch so weit ist, dass man das Objekt bis auf das Präparat herabsenken kann. Der Kasten ist mit einem Thermometer versehen und steht durch zwei Kautschukröhren mit einem Messingkessel in Verbindung, in dem das Wasser erhitzt wird, welches durch den Wärmekasten cirkulirt und diesen erwärmt.

POLAILLON[60]) benutzte einen niedrigeren Kasten von 1,0—1,5 Cm. Höhe, dessen obere und untere Seite von Glas waren. Durch den Kasten floss von einem höher gestellten Gefäss warmes Wasser aus.

ECKHARD'S[61]) Heiztisch besteht aus einem Blechkästchen von 8,5 Cm. Länge, 6,5 Cm. Breite und 1,2 Cm. Höhe. In der Mitte der oberen Wand sind Glasplatten eingesetzt, von denen die obere als Objektträger dient. Zwei Tubulirungen von Messing sind mit Kautschukschläuchen verbunden, durch welche erwärmtes Wasser ab- und zufliesst. In das Wasser gestellte Thermometer zeigen die Temperatur an. Das Wasser wird aus einem Wasserbade bezogen, welches auf einen etwas höheren Temperaturgrad gebracht wird als derjenige, den man wünscht. Der Zug des Wassers wird durch einen Quetschhahn regulirt, welcher an der Abzugsröhre angebracht ist.

SCHKLAREWSKY'S[62]) Heiztisch besteht aus einem niedrigeren Metallkasten von der Grösse eines gewöhnlichen Objekttisches, ist in der Mitte durchbohrt und im Innern durch senkrechte Scheidewände in ein System kommunicirender Räume getheilt. Der Objektträger ruht in der centralen Oeffnung auf einer dünnen glattgeschliffenen Blechplatte. Die sinnreiche Erwärmungsvorrichtung besteht aus einem Behälter, in dem das Wasser erwärmt wird und der mit dem Tische durch zwei Röhren verbunden ist, von denen die obere mit den oberen Flüssigkeitsschichten, die untere mit den unteren verbunden ist; durch die obere Röhre fliesst das erwärmte Wasser zum Tische und durch das untere zum Behälter zurück, bis eine gleichmässige Temperatur erhalten ist. Durch eine vertikal gestellte Abflussröhre fliesst das Wasser aus dem Kasten heraus.

DALLINGER konstruirte 1869 einen Heiztisch mit cirkulirendem warmem Wasser, welches in einem Behälter mit Gas-Quecksilber-Regulator erwärmt wird. Für die nähere Beschreibung siehe Journ. Roy. micr. Soc., 1897, Part II.

STRICKER'S[12]) Heiztisch hat die Form eines Kastens mit einem Loch für das hindurchgehende Licht. Durch den Kasten fliesst warmes Wasser von einem Behälter mit kochendem Wasser. Der zufliessende Strom läuft.

bevor er zum Kasten geht, durch eine Spiralröhre, welche um das Objektiv gewickelt ist, das also auch erwärmt wird. Durch langsames Abfliessen des Wassers wird die Temperatur regulirt. Dieser Tisch bildet einen Theil einer sehr sinnreichen Einrichtung zur Untersuchung des Mesenteriums warmblütiger Thiere, die auf pag. 726 ausführlich beschrieben wird.

Hartley's[63]) Wärmevorrichtung besteht ganz einfach aus einem U-förmig gebogenen Rohr, das auf dem Objekttisch fixirt wird und das zu untersuchende Präparat umgiebt. Der eine Schenkel des Rohres steht mit einem Erwärmungsgefäss in Verbindung. Von diesem Behälter, der kochendes Wasser enthält, fliesst das Wasser durch das Rohr und fliesst tropfenweise durch den anderen Schenkel ab, welcher in eine feine Spitze ausgezogen ist. Die Schnelligkeit des Abflusses und also die Temperatur des Wassers wird durch die höhere oder tiefere Stellung des Heizgefässes regulirt.

Symon's[64]) zweiter Heiztisch besteht aus einer mit Wasser gefüllten Metallkapsel, die zwei eingesetzte Deckgläser trägt, um das Licht durchgehen zu lassen. In dem Behälter liegt ein Spiralrohr, durch welches warmes Wasser strömt. Das Zuflussrohr hat zwei Schenkel, von denen der eine mit kaltem, der andere mit warmem Wasser in Verbindung steht. Sperrhaken reguliren den Zufluss.

Maddox[65]) beschreibt mehrere Anordnungen, in denen Heiztisch und feuchte Kammer mit einander verbunden sind. Eine Scheibe von Ebenholz ist in der Mitte von einem Loch durchbohrt, das unten durch ein Deckglas geschlossen ist. Ausserhalb des Loches verläuft eine seichte Rinne und ausserhalb dieser eine tiefere, in welche sich zwei Bohrungen öffnen, die mit Rohren verbunden sind. Ueber diese Platte kommt eine dünne Metallplatte, welche in der Mitte durchbohrt ist, und hier sitzt das Deckglas. In die der Kammer zunächst liegende Rinne kommt ein Falz, welcher die Kammer zuschliesst. In der äusseren Rinne, die durch die letztgenannte Platte zu einem geschlossenen Ringe umgeformt ist, cirkulirt heisses Wasser, welches aus einem Behälter mit kochendem Wasser kommt. Die obere Metallplatte wird durch Schrauben an die untere fixirt. Eine andere Einrichtung hat die Form von einem Ringtische. Er besteht aus einem hohlen Metallringe, in den auf der einen Seite eine Scheidewand eingesetzt ist. Auf jeder Seite von dieser sitzt eine Tubulirung, und durch diese wie durch den Ring kann das warme Wasser cirkuliren. In die Mitte des Ringes kommt eine feuchte Kammer von verschiedener Konstruktion. Die einfachste kommt so zustande, dass in den oberen und in den unteren Rand des Loches zwei Ebenholzplatten mit centralen Löchern eingefügt sind. In diese werden Deckgläser eingekittet. Eine andere besteht aus einer dünnen Ebenholzplatte mit centraler Oeffnung. Ueber dieser Oeffnung steht ein runder Ebenholzblock in der Mitte von einer konisch, nach unten sich erweiternden Oeffnung durchbohrt. Ueber diese Oeffnung kommt ein Deckglas, das den Boden der feuchten Kammer bildet. Ausserhalb dieser ist eine Rinne, die ein wenig Wasser enthält, um den Feuchtigkeitsgrad zu reguliren. Ueber dem runden Ebonitblock sitzt ein dünner Kautschukring, auf dem das Deckglas ruht. Die Dimensionen dieser feuchten Kammer sind derartig, dass letztere von der ringförmigen Heizkammer dicht umfasst werden kann.

Flesch[66]) beschreibt einen von ihm konstruirten Heiztisch folgendermassen. Er besteht aus einer rechteckigen Metallkammer, die in der Mitte mit einem Loch versehen und mit einem Thermometer verbunden ist. Ein T-förmiges Rohr führt durch den einen seiner Schenkel heisses, durch den zweiten kaltes Wasser zu. Der Wasserzufluss von den beiden Quellen des heissen und kalten Wassers wurde durch Benutzung von Quetschhähnen regulirt. Das Wasser fliesst tropfenweise aus der Kammer heraus. Um einen schnellen Temperaturwechsel bewirken zu können, wurde eine ziemlich komplicirte Abflussvorrichtung eingeführt. Aus der Kammer führt ein T-förmiges Rohr, dessen beide Querschenkel mit denen eines zweiten T durch Gummischläuche verbunden sind: der Vertikalschenkel des letzteren öffnet sich frei als Abflussrohr. »Von den verbindenden Gummischläuchen war der eine gewöhnlich durch eine Sperrpincette geschlossen; der andere trug einen Quetschhahn, mittels dessen die Cirkulation auf eine bestimmte Stromschnelligkeit eingestellt wurde. Sollte der heisse Strom durch kaltes Wasser ersetzt werden, so wurde im Moment der Oeffnung des für den Zufluss von kaltem Wasser bestimmten Hahnes die Sperrpincette geöffnet. In wenigen Sekunden konnte so die Temperatur der Kammer um mehr als 30° variirt werden; sobald der Temperaturwechsel erreicht war, wurde die Sperrpincette geschlossen und so der Abfluss wieder verlangsamt.«

Löwit[67]) setzte in die obere Platte des Heiztisches von Stricker (s. o.) einen kleinen, aus zwei Konvexlinsen bestehenden Kondensor, dessen obere Fläche plangeschliffen war und konnte dadurch starke Vergrösserungen anwenden.

Schäfer's Heiztisch besteht aus einem gewöhnlichen niedrigen, in der Mitte durchbohrten Kasten, durch welchen warmes Wasser von einem Behälter rinnt, dessen Temperatur von einem Gasquecksilberregulator regulirt wird. Betreffend die Details sei auf das Journ. of the royal microscopical Society, 1887, Part II, hingewiesen.

Die oben beschriebenen Einrichtungen mit Ausnahme von denen von Ranvier und Stricker leiden an demselben Hauptfehler wie die von Max

Schultze, dass nämlich die Objektive nicht erwärmt werden und darum die Temperatur der Objekte verändert wird. Die folgenden Apparate von Israel, Vignal und Babes suchen besonders diesen Fehler zu vermeiden.

Israel[68]) empfiehlt statt des erwärmten Objekttisches eine Heizvorrichtung, welche den Objektträger von oben erwärmt. Ihre Anwendung erfordert besondere Objektträger, in die das Deckglas eingeschliffen ist, so dass es in demselben Niveau wie das Objektglas liegt. Der Wärmeapparat besteht aus einer flachen, runden, im Centrum durchbohrten, an der Unterfläche plangeschliffenen, vernickelten Metallkapsel, in die ein metallenes, rechtwinkelig gebogenes Zuleitungsrohr das erwärmte Wasser hineinführt, während in der gläsernen Abflussröhre die Gradeintheilung des Thermometers sich befindet, dessen Kugel sich in das Innere der Metallkapsel hineinstreckt. Die Kapsel ist in der Mitte mit einem trichterförmigen Loch versehen, in dem das Objekt steckt.

Vignal's[69]) Heiztisch ist eine Modifikation von dem Ranvier'schen, indem sein Apparat aus zwei mit einander verbundenen Metallkästchen besteht, welche durch einen Spalt von 5 Mm. Höhe getrennt sind. In diesem Spalt liegt das Objektglas, und der so entstehende Raum wird durch einen Schieber völlig geschlossen. Die Abkühlung des Präparates durch das Objektiv ist ausgeschlossen, weil dieses von dem oberen Kasten umgeben und also erwärmt wird.

Babes'[70]) Heiztisch besteht aus einem hohlen Metallkasten, welcher sowohl das Objektglas wie das Objektiv und den Kondensor theilweise umgiebt. Er ist mit Wasser oder Glycerin gefüllt. Das Wasser wird durch einen dicken Kupferstab erhitzt, dessen eines Ende in der Flamme steht, während das andere in mehreren Windungen im Wasser liegt.

Eine bequeme Form hat man dem Heiztisch dadurch gegeben, dass man ihn ganz aus Glas hergestellt hat. Bei solcher Einrichtung kann man ihn nämlich direkt als gewöhnlichen Objektträger oder als feuchte Kammer anwenden.

Pfeiffer's[71]) Heiztisch besteht aus einem niedrigen Glaskasten, in dessen Wand zwei Tubulirungen für das zu- und abfliessende Wasser nebst einem Thermometer eingesetzt sind. Auf der oberen Seite befinden sich Vertiefungen, worin die Objekte untersucht werden.

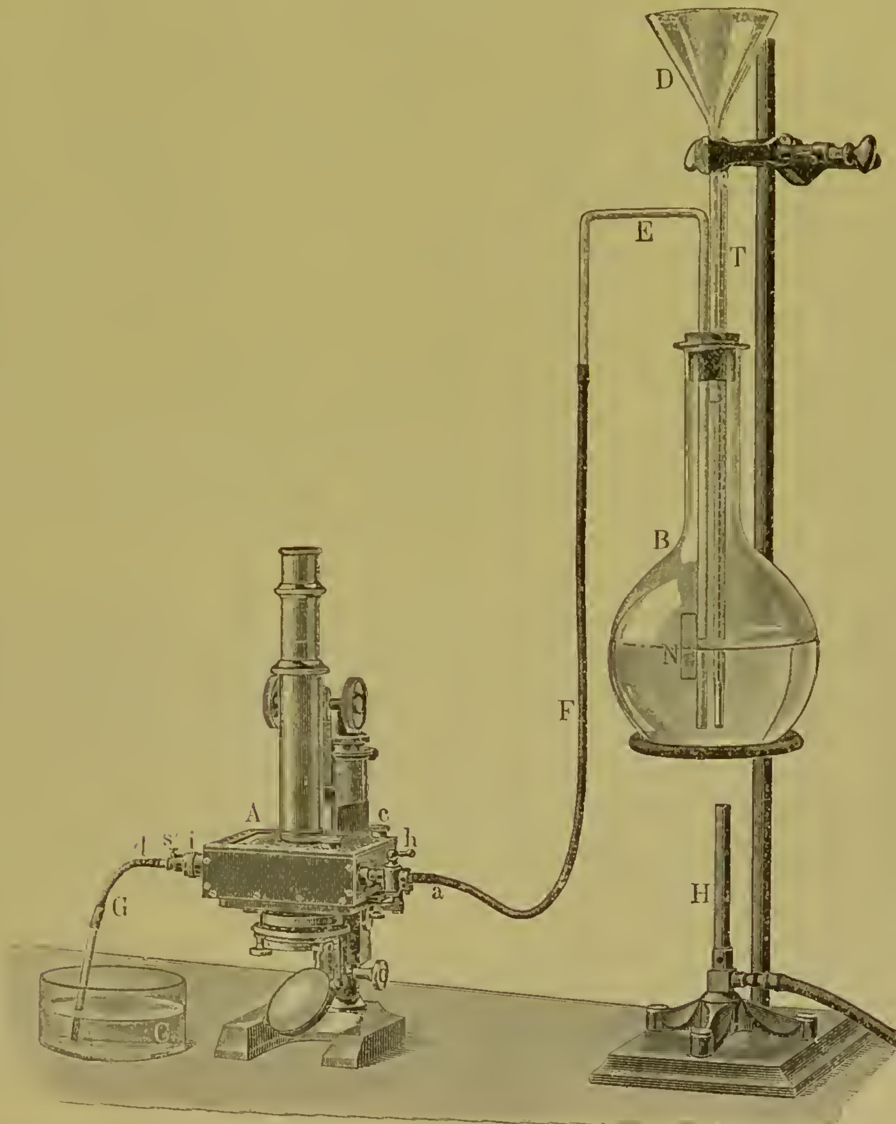
Im Princip ähnliche Objekttische sind ferner von Orosten[72]) und Dibdins[73]) vorgeschlagen worden.

Behrens[74] hat einen sehr sinnreichen Heiztisch erfunden, der wie die vorstehenden durch heisses Wasser erwärmt wird, dessen Regulirung sich aber auf ein ganz neues Princip gründet (Fig. 58). Ohne Zweifel ist dieser Tisch allen übrigen konstruirten Heiztischen überlegen, da er, nach den sorgfältigen Untersuchungen des Erfinders zu urtheilen, es erlaubt, die Temperatur des untersuchten Objektes auf $^1/_{10}$ Grad zu bestimmen und konstant zu erhalten.

Der Tisch hat die Form eines niedrigen Metallkastens, der hinten durch zwei kurbelförmige Klemmen fest auf den Mikroskoptisch geschraubt werden kann. Nur vorn und hinten berührt der Kasten den Mikroskoptisch. In der Mitte ist ein niedriger Hohlraum, in welchen das Präparat von der Seite hineingeschoben wird. In der Mitte ist der Apparat mit einem Loch versehen, in dem das Objektiv steckt. In Inneren ist der Tisch sehr komplicirt, um die Selbstregulirung auszuführen. Das auf 60° C. erhitzte Wasser fliesst von einer hochgestellten Flasche durch eine verschiebbare Röhre, welche mit einem Hahn und einer Stellschraube versehen ist, in den Kasten hinein und fliesst auf der anderen Seite durch eine andere solche Röhre hinaus. Während der Passage wirkt es auf eine Einrichtung, welche das Einfliessen regulirt und folgende Zusammensetzung hat: Innerhalb des Kastens, dem Einflussrohr gegenüber liegt ein Messingcylinder. Hinten ist ihm eine dünnwandige, allseitig geschlossene Hülse eingelöthet; in die Höhlung dieser Hülse reicht das Einflussrohr. Vorn verengt sich der Cylinder in den cylindrischen Stiefel, und in diesem ist ein sehr gut eingeschliffener Kolben frei beweglich. Dieser verlängert sich in eine Kolbenstange, welche in eine ebene Platte endigt. Diese Platte liegt dem Ausflussrohr des Apparates genau gegenüber. Befestigt ist die ganze Vorrichtung in einer Scheidewand, welche zugleich den vorderen Theil des Heiztisches in zwei gesonderte Räume theilt. Die Regulirung des Ab- und Zuflusses

des Wassers kommt folgendermassen zustande: Der durch den Kolben luftdicht verschlossene Cylinder ist im Innern mit Luft gefüllt. Wird diese eingeschlossene Luft durch das umgebende Wasser erwärmt, so dehnt sie sich aus und treibt dementsprechend den beweglichen Kolben im Stiefel vor. Erkaltet die Luft in dem Cylinder, so verringert sich ihr Volumen und der Kolben wird entsprechend zurückgezogen. Wenn der Kolben sich um eine gewisse Grösse vorgeschoben hat, so berührt seine Platte das Ende des Ausflussrohres und verschliesst dieses. Der Apparat lässt sich auf jedem

Fig. 58.



viereckigen Mikroskoptische mittlerer Grösse befestigen. Die übrige Anwendung ist im Original nachzusehen.

* * *

Die unbefriedigenden Resultate, welche man mit vielen von den älteren Heiztischen bekommt, gab die Veranlassung zu noch radikaleren Verfahren, die Objekte in konstanter Temperatur zu erhalten. Eines von diesen Verfahren besteht darin, dass man das ganze Mikroskop mit dem dazu gehörenden Präparate in einen Wärmeschrank brachte. So viel ich weiss, stammen die ersten Vorschläge in dieser Richtung von dem dänischen Phy-

siologen PANUM und dem deutschen Botaniker SACHS, welche unabhängig von einander solche Apparate konstruirt haben.

Der Wärmekasten von PANUM [75]) hat folgende Zusammensetzung: Die untere Hälfte des Mikroskops mit dem Objektive wird von einem hufeisenförmigen hohlen Blechkasten umgeben. Der von dem Wasserbehälter eingeschlossene Luftraum wird unten durch die Ebene des Arbeitstisches geschlossen. Oben wird er von einem Deckel begrenzt, welcher mit zwei Löchern für den Mikroskoptubus und die Schraube versehen ist. Vorn wird der Luftraum begrenzt, theils im oberen Theile durch ein hohles Verbindungsrohr zwischen den beiden Hälften des Kastens, theils darunter durch eine Glasplatte für den nöthigen Lichteinfall. Der Wasserbehälter ist an beiden Seiten in der Höhe des Objekttisches mit einer Oeffnung versehen, um den Objektträger bewegen zu können. Diese Oeffnungen können durch Korkplatten verschlossen werden. Der Behälter ist in seinem unteren Seitentheile mit einer hohlen ringförmigen Ausbuchtung versehen. Unter dieser steht die kleine Spiritusflamme, die das Wasser erhitzt. Die eingeschlossene Luftmasse hält eine konstante Temperatur 1—2° C. niedriger als das umgebende Wasser, dessen Temperatur durch die Grösse der Flamme regulirt wird.

Der Apparat von SACHS [76]) besteht aus einem Kasten mit doppelten Wänden aus Zinkblech, der das Mikroskop bis zu dem den Tubus tragenden Arm einschliesst. An der vorderen Seite des Kastens ist ein grosses Fenster von einer Glasscheibe geschlossen. Oben ist der Kasten durch einen Pappdeckel verschlossen, in welchem Oeffnungen für den Tubus und die Mikrometerschraube angebracht sind. An der einen Seite ist eine verschliessbare Oeffnung, durch welche man das Präparat verschieben kann. Der Kasten mit Inhalt steht auf einem metallenen Dreifuss und wird von einer Spirituslampe erhitzt.

NUTTALL [77]) hat den SACHS'schen Apparat modificirt. Die ganze untere Hälfte des Mikroskopes nebst dem Objektive ist in einen heizbaren Kasten eingeschlossen. Die vier Seiten und der Boden sind doppelt. Die zwei Seitenwände sind durch Scharniere beweglich und können auswärts geklappt werden. Sie sind mit Asbest, die übrigen Wände mit Wasser gefüllt. Das ganze ist mit Filz überzogen. Durch diese Konstruktion ist es möglich, mit Hilfe einer kleinen Flamme die Temperatur im Innern äusserst genau konstant zu erhalten. Durch eine ovale Oeffnung in der linken Seitenwand in der Höhe des Objekttisches kann man mit dem Finger die Verschiebung des Objektes ausführen. Für gewöhnlich ist dies Loch durch einen konischen Deckel geschlossen. Ein grosses viereckiges, durch eine Glasplatte geschlossenes Loch in der vorderen Seite des Apparates dient zum Eindringen des Lichtes. Der ganze Apparat steht auf vier Füssen und wird von unten durch eine regulirbare Flamme erhitzt. Ein ähnlicher Apparat wie der jetzt beschriebene ist von Zeiss in Jena in den Markt gebracht worden.

Wärmekasten, die das ganze Mikroskop erwärmen, sind auch von PLEHN [78]), FRIEDRICH [79]), PFEIFFER, KLEBS und ROHRBECK konstruirt. Da dieselben nur in den Details von den vorigen abweichen, so muss auf eine Beschreibung derselben verzichtet werden.

* * *

Das gewünschte Ziel, das Präparat in einer genau messbaren Temperatur untersuchen zu können, hat man auch dadurch zu gewinnen versucht, dass man das Objekt in ein Wasserbad von regulirbarer Temperatur bringt.

RANVIER [80]) führte ein ganz neues Verfahren beim Untersuchen frischer Gewebe bei höheren Temperaturen ein, indem er ein ganzes Mikroskop in ein Wasserbad von 36°—39° C. setzte. Er benutzte ein einfaches Mikroskop mit Wasserimmersion. Dieses kommt in einen niedrigeren Glaskasten, der so weit mit Wasser gefüllt werden kann, dass das Wasser 0,5 bis 1 Cm. über dem Objekttisch steht. Ein Thermometer reicht in das Wasser hinab. Neben dem Mikroskop steht ein Wasserbehälter, in dem das Wasser auf 40° C. erhitzt wird. Von hier läuft es durch einen Gummischlauch mit

regulirbarer Stellschraube in den Behälter und wird hier um ein paar Grad abgekühlt, so dass es die gewünschte Temperatur erhält. Durch einen Heber läuft das Wasser aus dem Gefäss, der Ausfluss wird gleichfalls durch eine Stellschraube regulirt. RANVIER findet diese Methode dem zuvor von ihm erfundenen Heiztische sehr überlegen.

An dieses von RANVIER angegebene Verfahren schliesst sich ein von PFEFFER [81]) erfundener Apparat, dessen Princip darin besteht, dass der ganze Objektträger in Wasser von regulirbarer Temperatur gebracht wird.

Der Apparat ist folgendermassen zusammengesetzt. Als Wasserbehälter dient ein rechtwinkliger Glaskasten von ungefähr 110 Mm. Länge, 70 Mm. Breite und 35 Mm. Höhe. Auf dessen Boden ruht der Objektträger auf 4—8 Mm. breiten Glasbrückchen. Die Heizung des Wassers wird durch eine von Gasflammen erhitzte Kupferplatte ausgeführt, auf welcher der Glastrog direkt steht, und welche mit Weglassung des Thermometers nach dem Princip des M. SCHULTZE'schen Objekttisches gebaut ist. Die Platte, welche in der Mitte mit einem Loch für den Lichtdurchlass versehen ist, wird durch zwei 3—4 Mm. dicke Hartgummistreifen von dem Mikroskoptisch isolirt. Der Glaskasten ist auf der Kupferplatte unbehindert verschiebbar, und durch leichtes Verschieben desselben können auch während der Versuche die Beobachtungsobjekte in dem Gesichtsfelde des Mikroskopes verrückt werden. Behufs Beleuchtung der Objekte besitzt die Kupferplatte einen grösseren kreisrunden Ausschnitt. Die Regulirung der Gasflamme besorgt ein empfindlicher STRICKER'scher Regulator, dessen rechtwinklig abgebogenes Quecksilbergefäss horizontal im Wasser liegt. Ein Thermometer, dessen Quecksilbergefäss in der Nähe des Objektglases sich befindet, giebt die Temperatur des Wassers und des Objektes an. Verträgt das untersuchte Objekt das Wasser, so wird das Objekt mit dem Deckglas direkt im Wasser untersucht, in anderem Falle müssen an Stelle der gewöhnlichen Objektträger irgend welche für das Aussenwasser undurchdringliche Luftkammern treten. Untersucht wird natürlich am besten mit Wasserimmersionen. Eine Untersuchung mit Trockenlinsen wird indess auch dadurch möglich, dass man auf das Deckglas eine dünnwandige Hülse aus Metall oder Glas mit etwas Baumwolle festkittet, welche über das Wasserniveau hervorragt und also eine Luftkammer direkt über dem Präparate bildet. Die einfachen Objektträger sowie die Feuchtkammern nehmen schnell und vollständig die Temperatur des umspülenden Wassers an. Die Schwankungen des neben dem Objektträger fixirten Thermometers betrugen bei einer Wassertemperatur von 50° C. während 12 Stunden + 0,1° C. Der Vortheil des Apparates gegen viele der früheren liegt also darin, dass man eine exakte Kenntniss der Temperatur des untersuchten Objektes erhält. Die Nachtheile liegen wohl in der unmittelbaren Nähe des Wassers zum Objekt und Objektiv, sowie in der unbequemen und beschränkten Beweglichkeit des untersuchten Objektes.

* * *

Eine Art von Heiztischen zeichnet sich dadurch aus, dass man den elektrischen Strom als Heizquelle benutzt. Die ersten Apparate in dieser Richtung wurden von STRICKER [12]) angegeben. Er schnitt aus Stanniol einen viereckigen Rahmen, welcher mit zwei grösseren Stanniolstreifen in Verbindung stand. Das Ganze kam auf einen Objektträger, wobei der Rahmen als Kammer für das eingeschlossene Objekt funktionirt. Mit dem Stanniolstreifen stand ein elektrischer Strom in Verbindung und erwärmte den Objektträger und dadurch das Objekt. Eine andere Heizvorrichtung besteht aus einem Objektträger von Kautschuk, in dessen Mitte ein ringförmiges Quecksilbergefäss eingegraben ist, so dass es eine runde

Kammer einschliesst, auf der das Deckglas ruht. Zu der Kammer führen gleichfalls in die Kautschukplatte eingemauert zwei Röhren, welche die Gase zu- und ableiten, sowie ein Thermometer, welcher in dem Quecksilbergefäss ruht. Die Kammer wird dadurch geheizt, dass das Quecksilbergefäss mit dem Drahte einer elektrischen Leitung umwickelt ist.

Stein benutzte die folgende Einrichtung[82]): Ein Objekttisch enthält eine Platinaspirale, welche die Lichtöffnung des Tisches umgiebt. Beim Schliessen des Stromes wird die Spirale erwärmt, und diese Wärme pflanzt sich so bis zu dem untersuchten Objekt fort.

Ein Heiztisch mit elektrischer Heizung ist ferner auch von Kraus[83]) beschrieben worden. Nach ihm ist der Tisch von Stein sehr unvollkommen. Eine feinere Regulirung ist nicht möglich, und grosse Temperaturschwankungen finden darum statt. In Verbindung mit dem Ingenieur Ehmann konstruirte nun Kraus folgenden Apparat: Der Objekttisch ist ein hohler Metallkasten, in dem sich eine Silberspirale befindet, welche mit der Hauptleitung verbunden ist. Der Tisch ist mit Paraffinöl gefüllt, welches nicht elektrolytisch zersetzt wird und sich vollkommen als Wärmeleiter eignet. Bei Schliessung des Kontaktes tritt der Hauptstrom in die Spirale ein und erhitzt sie. Das Paraffinöl wird erwärmt, und die Temperatur des Kastens steigt. Im Tisch sitzt weiter ein Kontaktthermometer, das mit einem sehr sinnreichen Regulirapparate verbunden ist. Der Quecksilberfaden des Kontaktthermometers kommt nämlich während des Steigens schliesslich in Berührung mit einem Platinadraht, wodurch ein Nebenstrom geschlossen wird, welcher seinerseits den Hauptstrom öffnet. Die Temperatur sinkt, und da jetzt der Quecksilberfaden auch sinkt, wird der Hauptstrom wieder geschlossen. Da ausserdem das Kontaktthermometer sehr empfindlich ist, gelingt es, die Temperatur auf 0,1° zu reguliren und konstant zu erhalten.

* * *

Die Untersuchung von lebenden Geweben bei warmblütigen Thieren erfordert aber nicht nur konstante höhere Temperaturen. Man muss auch die Gewebe vor Verdunstung und Austrocknung schützen, und dies scheint am besten durch Irrigationseinrichtungen vermieden zu werden. Um die Ausbildung einer derartigen Technik haben sich besonders Stricker und Thoma Verdienste erworben.

In Verbindung mit Burdon Sanderson arbeitete Stricker[84]) eine Methode für mikroskopische Untersuchung des Säugethierkreislaufes aus. Das Princip seines Apparates ist folgendes: Das Thier ruht in der Nähe des Objekttisches auf einer Glasplatte, die vermittels eines Stativs verschiebbar fixirt wird. Das aus der Bauchwunde hervorgezogene Omentum ruht in einem Kochsalzbade, das auf einem Heiztisch über dem Objekttische liegt. Von dem mit kochendem Wasser gefüllten Behälter fliesst das Wasser erst in einer Röhre um die Objektivlinse, dann durch den Tisch. Das Abflussrohr endigt in ein Kapillarrohr, durch dessen Erhöhung oder Senkung der Abfluss und also die Temperatur des Wassers regulirt wird. Von diesem Abflussrohre geht auch ein Ast ab, durch den warmes Wasser in das Kochsalzbad tröpfelt und dadurch die abdunstende Flüssigkeit ersetzt. Betreffend die näheren Details der sinnreichen, aber komplicirten Einrichtung muss auf das Original hingewiesen werden.

Thoma's[85]) Versuchsanordnung für die Untersuchung der lebenden Gewebe bei warmblütigen Thieren ist die folgende:

Die Thiere werden auf ein stark lackirtes, 50 Cm. langes, 26 Cm. breites, 1 Cm. dickes Brett aus Eichenholz gelagert. Dieses Brett besitzt 1,5 Cm. von seinem gegen den Beobachter gewendeten längeren Rande entfernt einen kreisförmigen, sich nach unten hin konisch erweiternden Ausschnitt von 4 Cm. Durchmesser. Auf dem Ausschnitt steht ein Kasten,

welcher in der oberen und unteren Seite mit Glasscheiben, dem Ausschnitt entsprechend, versehen ist. Durch den Kasten fliesst warmes Wasser. Das Brett ist mit einem darunter stehenden Tische beweglich verbunden. Auf der oberen Fläche des Brettes erhebt sich ferner eine Eisenstange, welche mittels eines langarmigen Bürettenhalters eine Glaskanüle trägt. Durch diese fliesst die Irrigationsflüssigkeit über die auf dem Metallkasten ruhenden, zu untersuchenden Organe. Die Irrigationsflüssigkeit, sowie das Wasser, welches durch den Kasten fliesst, werden in einem Luftbade mit konstanter Temperatur erhitzt. Als optisches Instrument wird ein Mikroskop ohne Objekttisch benutzt, welches so gestellt ist, dass der obengenannte Wärmekasten den Objekttisch bildet.

Die Einrichtung, welche HAYEM [86]) benutzte, um das Mesenterium der lebenden Warmblüter zu studiren, zeichnet sich durch praktische Einfachheit aus. Sie besteht aus einer Holzplatte, in der sich ein kreisförmiges Loch von 1 bis 1,5 Cm. Durchmesser befindet. Dieses ist von einem schmalen Korkringe von 3 bis 4 Mm. Höhe umgeben, auf dessen innerer Peripherie eine kreisförmige Glasplatte ruht. Auf dieser Platte breitet man den betreffenden Theil des Mesenteriums aus und fixirt den Darm durch Nadeln an den Korkring. Eine Irrigation von warmer 0,5—0,6⁰/₀iger Kochsalzlösung schützt gegen Vertrocknung.

Eine Untersuchung lebender Gewebe, die leider in unseren Tagen beinahe ganz unberücksichtigt ist, ist die von KÜHNE und LEA: Beobachtung über die Absonderung des Pankreas. Untersuchungen aus dem physiologischen Institute der Universität Heidelberg, Bd. 2, Heft 4, 1882. Diese Untersuchung demonstrirt in dem frischen Drüsengewebe die Umwandlungen der Drüsengranula von stark lichtbrechenden Körnern bis zu Sekretvakuolen, Vorgänge, die von principieller Bedeutung für die Drüsenphysiologie sind, welche aber von vielen neueren Drüsen-Histologen nicht nur angezweifelt, sondern direkt bestritten worden sind. Gewiss wäre die Aufnahme der KÜHNE'schen Pankreas-Beobachtungen mit unseren neueren optischen Einrichtungen eine zeitgemässe und fruchtbare histologische Aufgabe.

Der Versuch wird folgendermassen ausgeführt: Ein Kaninchen wird mit Aether narkotisirt. Darauf wird das mit Wattebinden umwickelte Thier auf einem vertikal verstellbaren, in beliebiger Neigung zu fixirenden Brette befestigt, das mittels zweier Metallsäulen auf einem eisernen Fusse ruht. Dieser Apparat steht vor dem Objekttisch eines grösseren englischen Stativs, welches mit seinem weit vorspringenden Tubusträger und dem vielfach beweglichen, weit durchbrochenen Tische für den vorliegenden Zweck sehr brauchbar ist. Die Duodenumschlinge mit dem Pankreas wird aus dem Bauchschnitte hervorgezogen und auf einen besonders konstruirten Objektträger gelegt. Das Präparat wird alsdann nach dem THOMA'schen Irrigationsverfahren mit auf Bluttemperatur erwärmter Salzlösung berieselt. Bei dieser Anordnung lassen sich die Blutcirkulation sowie die Zellenveränderungen des lebenden Pankreas schön studiren.

Kältevorrichtungen.

Gewisse mikroskopische Untersuchungen verlangen es, die Objekte bei niedrigeren Temperaturen als der gewöhnlichen Zimmertemperatur zu untersuchen. Die dazu nöthigen Einrichtungen können so erhalten werden, dass man in den »Heiztischen« statt des erwärmten kaltes Wasser oder Alkohol, dessen Temperatur durch Kältemischungen herabgesetzt wird, cirkuliren lässt. Dazu hat man auch Gefrierapparate für mikroskopische Beobachtungen erfunden.

H. MOLISCH [87]) hat einen zweckmässigen Gefrierapparat konstruirt, der von C. REICHERT-Wien sorgfältig ausgeführt wurde. Der Gefrierapparat be-

steht aus einem Kasten, der ebenso wie die oben beschriebenen Wärmekasten das Mikroskop ganz umgiebt, mit doppelten Wänden versehen ist und bei dem der so entstehende Raum mit Eis gefüllt ist. Der Objekttisch und der Spiegel sind beweglich und können durch aus dem Kasten hervorragende Schlüssel in Bewegung gesetzt werden.

Vorrichtungen zur elektrischen Untersuchung der Gewebe.

Die Untersuchungen über die Einwirkung elektrischer Ströme auf die lebenden Zellen und Gewebe hat zu besonderen Anordnungen geführt.

Im Journal of the royal microscopical Society, Vol. V, Part 5, findet man eine Zusammenstellung verschiedener solcher Apparate bis zum Jahre 1885, welche ich hier citire:

Plössl's Entlader besteht aus zwei Spitzen aus Platina, welche in Röhren eingesetzt sind und mit Leitungsdrähten in Verbindung stehen. Die Röhren befinden sich auf einem Stativ, welches in seiner Mitte mit einer Glasscheibe versehen ist, auf der das untersuchte Objekt ruht.

Schacht und Kühn erhielten dadurch einen elektrischeu Apparat, dass sie zwei Platinastücke auf ein Objektglas so festkitteten, dass sie unter das Deckglas hineinragten, wonach die Stücke mit einer elektrischen Batterie in Verbindung gebracht wurden.

Jendrassik und Mezey benutzten bei ihren mikroskopischen Uutersuchungen über die Kontraktion quergestreifter Muskelfäden die folgende Anordnung. Auf einem Objektglase befinden sich zwei linsenförmige Einsenkungen parallel und in 3,5 Mm. Entfernung von einander. Am Ende jeder Einsenkung ist das Objektglas durchbohrt, und in den Einsenkuugeu liegen Platinadrähte, welche durch die Löcher zu den unter dem Objektglase liegenden Metallplatten führen, welche mit den Polen einer elektrischen Batterie in Verbinduug stehcu.

Thanhoffer erfand folgenden Apparat: 2 T-förmige Platinastreifen werden auf ein Objektglas befestigt, so dass die Quersehenkel parallel zu einander stehen und ein Zwischenraum von einigen Millimetern zwischen ihnen ist. Das Objektglas ist in einen Holz- oder Kautschukrahmen eingesetzt. Auf der einen Seite des Rahmens sitzen zwei Kupferplatten mit kupfernen Schrauben festgeschraubt. Diese Platten, welche die Form der gewöhnlichen Klammern auf unsern Objekttischen haben, berühren die Platinastücke, und die Schrauben stehen mit einer elektriseheu Batterie in Verbindung.

Brücke's Apparat besteht aus einem Objektglas, an den Enden mit dünnen Blechblättern bekleidet, welche gegen die Mitte in zwei Spitzen unter das Deckglas reichen. Das Objektglas sitzt in einem entsprechenden Ausschnitt in einer Holzplatte, welche bandförmige Kupferplatten trägt, die die Blechstücke des Objektglases berühren.

Ströbelt's Anordnung ist wie folgt: Ein Objektglas wird an beiden Enden mit dünnen Stanniolscheiben bekleidet. In den Falz zwischen ihnen und dem Glase werdeu zwei Stanniolspitzen eingeschoben, so dass die Spitzen unter dem Deckglase gegen einander gerichtet sind. Dieses Objektglas ruht auf einem anderen, auf das die zwei Stanniolscheiben, eine auf jeder Seite, festgekittet sind, welche theils die Blechscheiben des vorerwähnten Objektglases berühren, theils mit einer Batterie in Verbindung stehen.

Stricker kombinirte die elektrische Untersuchung mit einer Gaskammer. Ein Ring aus Kitt begrenzte einen Raum auf dem Objektglase. Anf jeder Seite des Ringes bekleiden dünne Blechscheiben das Objektglas, und auf dem Ringe ruht ein Deckglas, das auch auf der untereu Seite mit zwei Blechstreifen bekleidet ist, welche mit denen, die den Wall bekleiden, im Kontakt sind.

Harting benutzte ein Objektglas von 100 Mm. Länge nnd 30 Mm. Breite, an dessen Enden zwei dünne Blechstreifen je einer auf jeder Seite, mit einem Zwischraum von 25 oder 30 Mm. befestigt sind. In diesem letzteren liegt das Objekt entweder in einer feuchten Kammer oder direkt unter dem Deckglase. Die Leitung zum Objekt wird durch zwei C-förmig gebogene Platinadrähte vermittelt, deren eines Ende unter das Deckglas hineingesteckt ist, während das andere auf der Metallplatte ruht.

Dippel's Apparat besteht aus einer Glasscheibe von der Grösse eines gewöhnlichen Mikroskoptisches. An den Enden dieser Scheibe stehen zwei mit Kupferdraht umwickelte Glasröhren. Das eine Ende derselben steht mit der Batterie in Verbindung, das andere ist zu einer Spitze gebogen, welche sich dicht an das Objektglas schmiegt und von zwei an das Objektglas festgekitteteu Glasstreifen heruntergehalteu wird und unter das Deckglas geschoben werden kann.

Schäfer schlägt vor, auf das gewöhnliche Objektglas oder an die feuchte Kammer zwei schmale, zugespitzte Metallstreifen festzuleimen, deren zugespitzte Enden unter das Deckglas gesteckt werden; die anderen werden mit dem Stativ in Verbindung gesetzt, das mit elektrischen Batterien verbunden ist.

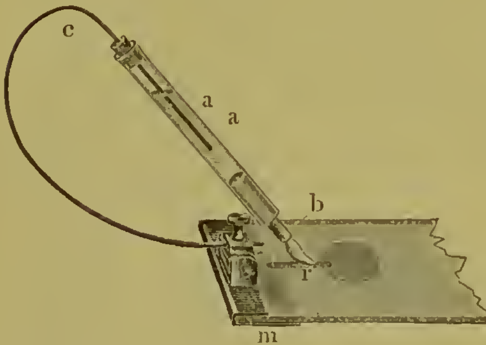
Engelmann benutzte auch die von ihm konstruirte Gaskammer für elektrische Untersuchungen. Austatt des gewöhulich gebrauchten Messingdeckels wird ein solcher von Glas

benutzt. Derselbe ist mit zwei Durchbohrungen versehen, und von jeder von diesen führt eine Rinne zur Kammer. Die Durchbohrungen und die Rinnen werden mit Thon ausgefüllt und die aus den Durchbohrungen hervorragenden Thonpfröpfchen mit den du Bois'schen Elektroden in Verbindung gebracht.

In Anbetracht der schönen Resultate, welche Verworn[88]) bei galvanischer Reizung mikroskopischer Objekte erhalten hat, müssen natürlich seine Einrichtungen besondere Aufmerksamkeit auf sich lenken. (Fig. 59).

Auf einen Objektträger werden zwei Leisten von porösem Thon parallel neben einander aufgekittet. An ihren Enden werden sie durch je einen kleinen Wall von isolirendem Kitt (Kolophonium und Wachs) verbunden, so dass ein kleines offenes Kästchen auf dem Objektträger entsteht, in das man die Wassertropfen mit den zu untersuchenden Objekten hineinbringen kann. An die beiden parallelen Thonleisten werden die Pinsel der unpolarisirbaren Elektroden angelegt. Diese bestanden aus kurzen, an einem Ende mit einem Pfropfen von plastischem Thon geschlossenen Glasröhren, die mit einer gesättigten Lösung von Zinksulfat gefüllt waren. In den Thonpfropfen steckte der mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtete Pinsel und in die Lösung ragte vom anderen Ende der Röhre ein amalgamirter Zinkstab hinein, an welchem die Poldrähte befestigt waren. Wurden spitze Elektroden nothwendig, so wurden solche aus porösem Thon in der Form von runden Stäben mit gebogenen Spitzen gemacht, welche mit Kittklötzen auf dem Objektträger so befestigt wurden, dass sie nur mit ihren Spitzen in einen Wassertropfen eintauchten, welcher auf dem Objektträger das Objekt enthielt.

Fig. 59.



W. Kaiser[89]) berichtet über einen einfachen Apparat zur Elektrolyse unter dem Mikroskope auch bei geringem Fokalabstande der benutzten Objektive, welcher sich auch zu elektrophysiologischen Versuchen mit Infusorien und Bakterien eignet. Der Apparat besteht aus einer sinnreich konstruirten feuchten Kammer aus Glas, deren Boden mit Bohrungen versehen ist, in denen die leitenden Platinadrähte verlaufen.

Fig. 60.

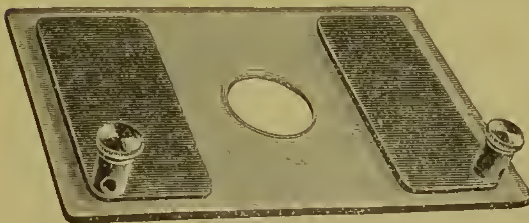
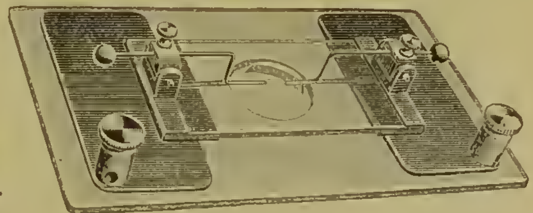


Fig. 61.



Der beste und darum auch empfehlenswertheste unter den Apparaten für die elektrische Untersuchung lebender Objekte scheint der von Schaper[90]) in der neuesten Zeit beschriebene zu sein (Fig. 60 u. 61). Der Apparat besteht aus einer Konduktorplatte, die direkt auf dem Mikroskoptisch ruht und darum in der Mitte mit einem kreisrunden 20 Mm. weiten Ausschnitt versehen ist. Die Platte besteht aus starkem Spiegelglas, ist 12 Cm. lang und 7 Cm. breit. Auf diese Glasplatte werden nahe der Breitseite je eine starke, vernickelte Metallplatte von 6 Cm. Länge und 3 Cm. Breite aufgekittet, deren jede in einer äusseren Ecke eine Klemmschraube zur Aufnahme der beiden Poldrähte trägt. Auf diese Konduktorplatte kommt ein Objektträger von solchen Dimensionen zu ruhen, dass er für die mikroskopische Untersuchung sehr bequem nach verschiedenen Richtungen verschoben werden kann, ohne

die Polarität aufzuheben. Diese kommt dadurch zustande, dass die beiden Enden des Objektträgers mit einem klammerartigen Metallstück versehen sind, das die Kanten des Objektträgers umfasst und mit einer breiteren Platte der Unterfläche, mit einer schmäleren der Oberfläche desselben fest anliegt. Diese Metallplatten des Objektträgers berühren jene der Konduktorplatte, und hierdurch entsteht der Kontakt. Auf der der oberen Fläche des Objektträgers aufliegenden Platte befinden sich Vorrichtungen, die zur Aufnahme der Elektroden dienen. Diese sind so eingerichtet, dass sie sich theils gegen einander verschieben können, theils können sie durch die Drehung der befestigenden Klammerschraube um eine Horizontalachse gehoben und gesenkt werden, was einerseits ein Auswechseln der Poldrähte erleichtert, andererseits eine genaue Adaptirung der Polspitzen auf die Oberfläche des Objektträgers gestattet.

Für verschiedene Zwecke hat der Erfinder zwei in den Details verschiedene Objektträger konstruirt, die von der Firma E. Zimmermann, Leipzig, Emilienstrasse 21, angefertigt und auf den Markt gebracht worden sind. Der Preis für den Gesammtapparat ist auf 25 Mk. festgesetzt worden.

Verfahren bei der Untersuchung der überlebenden Gewebe.

Die Ursache, dass die gegenwärtigen Histologen so wenig die Gewebe im frischen Zustande untersuchen, liegt ohne Zweifel darin, dass man allgemein der Ansicht huldigt, dass in unserer Zeit auf dem Wege der frischen Untersuchung überhaupt nichts zu beobachten ist. Diese Vorstellung ist aber nicht richtig. Es giebt gewiss Gewebe, deren Untersuchung im frischen Zustande vermittels der modernen Apochromaten ebenso schöne Bilder wie nach der Fixirung und Färbung liefert. Ich erinnere z. B. an die Drüsenzellen. Gestützt auf meine Erfahrungen auf diesem Gebiete der Histologie darf ich behaupten, dass ein lege artis dargestelltes Präparat (d. h. von genügender Dünnheit und mit beibehaltener Orientirung) dieses Gewebes jedes fixirte und gefärbte Präparat, auch wenn es nach den besten Methoden angefertigt ist, bei weitem übertrifft; abgesehen davon, dass die allermeisten von den Fixirungsmitteln, die man in der Drüsenhistologie gebraucht, die Zelle nur in der Form eines sehr verstümmelten Leichnams darzustellen vermag. Dass man bis jetzt noch so wenig Erfahrungen über die Untersuchung frischer Gewebe überhaupt besitzt, hat seinen Grund ganz gewiss darin, dass man keine passenden Methoden für diesen Zweck hat. Es wäre also gewiss von grossem Nutzen, wenn die Technik der Untersuchung frischer Gewebe etwas Interesse zu erwecken vermöchte und sie durch die Erfindung neuer Methoden bereichert werden könnte. Im allgemeinen scheint die Technik einfach darin zu bestehen, dass kleine Stücke des Gewebes in einem Tropfen indifferenter Zusatzflüssigkeit zerzupft oder einfach unter dem Deckglase zerquetscht wurden. Die so erhaltenen Resultate lassen oft viel zu wünschen übrig. Die genaue Zerzupfung dislocirt oft in allzu hohem Grade den Zusammenhang der Elementartheile; eine ungenügende Zerzupfung führt aber oft zu dem Resultate, dass man nichts sieht.

Sehr gute Resultate habe ich durch die Anwendung eines kleinen Apparates erhalten, den ich hier beschreiben will. Es kam mir darauf an, Schnitte durch die frischen Drüsen und Schleimhäute in kürzester Zeit und von möglichst grösster Dünne unter Beibehaltung der gegenseitigen Verhältnisse der Elementartheile zu erhalten. Diesen Zweck habe ich durch das Zermahlen der Drüse erreicht. Der hierbei in Anwendung kommende Apparat besteht aus einem Metallcylinder von 11 Cm. Länge und 1,6 Cm. Durchmesser. In der Mitte des Cylinders sitzt eine Platte, die den Innenraum des Cylinders in zwei Räume theilt. Die Platte ist von vielen Löchern durchbohrt. Zum Apparate gehören mehrere solche Platten, deren Löcher

von verschiedenem Durchmesser sind. Der Cylinder besteht aus zwei Röhren, welche durch ein Schraubengewinde zusammengehalten werden. Auf der einen Seite der Platte wird in den Cylinder die zu untersuchende Drüse hineingestopft und durch eine Schraube gegen die Platte gedrückt, so dass ihr Parenchym durch die feinen Löcher gepresst werden kann. In der anderen Abtheilung des Apparates befinden sich vier kleine, kreuzförmig angeordnete Messerblätter, die durch eine spiralförmige Feder dicht an die Platte gedrückt und durch einen Motor um eine in der Längsrichtung des Cylinders gehende Achse in schnell rotirende Bewegung gesetzt werden. Das durch die Löcher gepresste Drüsenparenchym wird von den Messern sehr fein zerschnitten, und man erhält dasselbe durch diese Procedur in einen dicken Brei umgewandelt. Ein weniges von diesem Brei auf das Objektglas gestrichen und mit einem Deckglas bedeckt zeigt kleine durchsichtige Gewebefetzen, in denen der Zusammenhang und die typische Anordnung der Elemente gut bewahrt ist. Der Cylinder wird durch eine Klemme in einem Schraubstock fixirt. Der Apparat ist auf meinen Vorschlag von dem hiesigen Instrumentenmacher Alb. Stille konstruirt und verfertigt worden.

Auch für einen anderen Zweck, als dünne Schnitte zu erhalten, kann man den beschriebenen Apparat gebrauchen. Er eignet sich vorzüglich, wenn man bestrebt ist, die festen und flüssigen Zellbestandtheile von einander zu unterscheiden. Wie mir gewiss jeder Histologe beistimmen wird, sind unsere Kenntnisse von dem Aggregatzustande der Zellbestandtheile sehr unzureichend. Es leuchtet auch ein, dass diese Frage sehr wenig weitergeführt wird, wenn man seine Schlüsse über den festen oder flüssigen Zustand der Zellbestandtheile aus dem Aussehen derselben in den fixirten Präparaten zieht. Auch vor Analogieschlüssen im Sinne von Fischer muss ich nach meinen Erfahrungen entschieden warnen. Man muss die lebenden Gewebe selbst mit Hilfe einer Methode, welche für diesen Zweck geeignet ist, untersuchen.

Dass die genannte Frage betreffend den physikalischen Zustand eine heikle und nicht im ersten Augenblicke zu lösende Frage ist, beweisen die einander widersprechenden Ansichten über die Natur der Drüsenkörner, welche von einigen (Held u. a.) als Flüssigkeitstropfen angesehen werden, von anderen als festere Bestandtheile aufgefasst werden. Dass diese letztere Meinung die richtige ist, habe ich aus dem folgenden Versuch ganz bestimmt erfahren.

Wenn man in den oben beschriebenen Apparat eine Scheibe mit sehr feinen Durchlöcherungen einsetzt und dann eine Eiweissdrüse durchpresst, so findet man, wenn man etwas weniges von dem erhaltenen Brei in einem Tropfen von Serum untersucht, neben kleinen Gewebsfetzen und isolirten Zellen und Kernen massenhaft freie Drüsenkörner, welche in der Flüssigkeit umherschwimmen, ohne ihre Form zu ändern. Sie legen sich oft sehr dicht aneinander und bilden schöne regelmässige Felder, welche sich stundenlang beobachten lassen. Eigenthümliche Eiweisstropfen, welche in einer Serumflüssigkeit sich nicht auflösen und nicht zusammenfliessen, sondern ihre charakteristische Form vollständig beibehalten! Man kann auch die Drüsenkörner in noch freierem Zustande gesondert erhalten. Wenn man in einem Probirglas den durch den Apparat gewonnenen Brei mit Serum und Sand tüchtig schüttelt und dann durch Leinwand filtrirt, erhält man eine trübe Flüssigkeit. Wenn man nun diese durch Centrifugirung separirt, erhält man eine deutliche Oberflächenschicht, die bei mikroskopischer Untersuchung nur das regelmässige Körnerbild zeigt, während die vorhandenen Gewebefetzen sich am Boden gesammelt haben. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung anzustellen, habe ich bis jetzt nicht Zeit und Musse ge-

habt, nachdem ich mein Ziel erreicht habe, zu zeigen, dass die Drüsenkörner in den Eiweissdrüsen keine Eiweisstropfen sind, sondern ein solches Gefüge haben, dass sie in sich selbst zusammengehalten werden können.

Vielleicht könnte das von mir benutzte Verfahren auch für andere Gewebe von Nutzen sein.

Doch muss ich betonen, dass die erwähnten Untersuchungsverfahren lange nicht so leicht sind, wie man vielleicht auf den ersten Blick glauben könnte. Wer sich mit Untersuchungen über die frischen Gewebe beschäftigen will, muss vor allem Geduld und Ausdauer besitzen.

Schliesslich noch einige Worte über das Untersuchungsmedium frischer Gewebe. (Näheres siehe Beobachtungsmedien, indifferente.) Zur Untersuchung frischer Gewebe braucht man eine sogenannte indifferente Flüssigkeit, um die Objekte darin zu untersuchen. Als solche wird von altersher eine Kochsalzlösung von 0,6%, die sogenannte physiologische Kochsalzlösung, empfohlen. Es ist aber zu bemerken, dass diese Flüssigkeit nicht indifferent ist. Weit unschädlicher sind dann Blutserum, Amniosflüssigkeit oder Humor aqueus. Viel gebraucht ist das Jodserum von Max Schultze, worunter man bekanntlich eine Serumlösung versteht, zu der man Jod gesetzt hat, um deren Zersetzung zu verhindern. Nach meiner Erfahrung ist es am besten, stets frisches Serum zu benutzen, das man ja sehr schnell bereiten kann, wenn man eine von den jetzt so allgemeinen Hand-Centrifugen in seinem Laboratorium zur Hand hat. Eine praktische Centrifuge für biologische Zwecke wird von Cori[91]) beschrieben.

Litteratur: 1) Benda (Verh. physiol. Ges. Berlin, Jahrg. 1899/1900), 2) Recklinghausen (Virch. Arch., Bd. 28, 1863), 3) Kühne (ebenda, Bd. 30, 1864), 4) Cohnheim (ebenda, Bd, 34, 1865), 5) Boettcher (ebenda, Bd. 32, 1865), 6) Duclaux (Comp. rend., Bd. 56, 1863), 7) van Tieghem und Lemonnoir (Ann. sc. nat. Bot., Bd. 17, 1873), 8) Pasteur (Études sur la bière, Paris, 1876), 9) Chevalier (Des microscopes et de leur usage, 1839), 10) de Bary (cit. nach Brefeld [11]), 11) Untersuchungen über die Schimmelpilze, H. 4, 12) Stricker (Handbuch der Lehre von den Geweben, Leipzig 1871), 13) Thanhoffer (Das Mikroskop und seine Anwendung, Stuttgart 1880), 14) Strassburger (Befruchtung und Zelltheilung, Jena 1878), 15) Ranvier (Technisches Lehrbuch), 16) Malassez (Gaz. méd., 1879), 17) Selenka (Zeit. wiss. Zool., Bd. 33, 1880, 18) Strassburger (Gr. bot. Prakt., Jena 1897), 19) Hansen (Meddelelser fra Carlsbergs Laboratoriet, 1881), 20) Legan (Journ. Roy. Micr. Soc., 1886), 21) Hayem (cit. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), 22) Pfeffer (ebenda, Bd. 7, 1890), 23) Braatz (Centr. Bakt., Bd. 8, 1890), 24) F. E. Schultze (cit. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), 25) Cori (ebenda Bd. 10, 1893), 26) derselbe (ebenda, Bd. 12, 1895), 27) M. Heidenhain (ebenda, Bd. 13, 1896), 28) Schaudinn (ebenda, Bd. 11, 1894), 29) Rhumbler (Zeit. wiss. Zool., Bd. 46, 1888), 30) Pagan (Journ. Roy. micr. Soc., 1887), 31) Schönfeld (ebenda, 1888), 32) af Klercker (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), 33) Scheffel (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), 34) H. E. Ziegler (ebenda, Bd. 14, 1897), 35) Kantorowicz (ebenda), 36) Harless (cit. nach Thanhoffer [13]), 37) Kühne (Virch. Arch., Bd. 34, 1865), 38) Boettcher (ebenda, Bd. 36, 1866), 39) Huizinga (ebenda, Bd. 42, 1868), 40) R. Heidenhain (cit. nach Thanhoffer [13]), 41) Engelmann (Jena. Zeit. Nat., Bd. 4, 1868), 42) Rollett (Unters. physiol. Inst. Graz, 1870), 43) Clason (Upsala Läkare f. förh., Bd. 6, 1870/71), 44) Pringsheim (Zeit. Instrument. 1881), 45) Lopriore (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 28, 1895), 46) F. Holmgren (Fest. f. Ludwig, 1874), 47) Arndt (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), 48) Hering (Sitz. Ak. Wiss., Wien 1868), 49) Thoma (Virch. Arch., Bd. 65, 1875), 50) F. E. Schultze (Arch. mikr. Anat., Bd. 2, 1860), 51) Caton (Journ. Roy. micr. Soc., 1883), 52) Schweigger-Seidel (Virch. Arch., Bd. 27, 1863), 53) Rollett (Sitz. Ak. Wiss., Wien, Bd. 50, 1864), 54) Beale (How to work with the Microscop, 1865), 55) Senarmont (cit. Journ. Roy. micr. Soc., 1887), 56) M. Schultze (Arch. mikr. Anat., Bd. 1, 1865), 57) Eberlein (Zeit. wiss. Zool., Bd. 59, 1895), 58) Bell (cit. Journ. Roy. micr. Soc., 1887), 59) Symon (ebenda), 60) Polaillon (Journ. de l'Anat. Physiol., 1866), 61) Eckhard (Zeit. rat. Med., Bd. 29, 1867), 62) Schklarewsky (Arch. mikr. Anat., Bd. 4, 1868), 63) Hartley (citirt Zool. Jahresber., 1880), 64) Symon (Journ. Roy. micr. Soc., 1882), 65) Maddox (ebenda, 1883), 66) Flesch (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), 67) Löwit (ebenda, Bd. 2, 1885), 68) Israel (ebenda), 69) Vignal (Arch. de Physiol., Bd. 17, 1885), 70) Babes (Centr. Bakt., Bd. 5, 1888), 71) Pfeiffer (Die Protozoën als Krankheitserreger, 1891), 72) Orosten (Bull. Soc. Belg. Micr., Bd. 18, 1891), 73) Dibdins (Journ. Roy. micr. Soc., 1883), 74) Behrens (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895), 75) Panum (Nord. med. Arckiv, Bd. 6, 1874), 76) Sachs (Lehrbuch d. Botanik, 4. Aufl., 1874), 77) Nuttall (Zeit. Hyg., Bd. 4, 1888), 78) Plehn (Aetiologische und klinische Malariastudien, Berlin, 1890), 79) Friedrich (Arb. kais. Gesundheit., Bd. 8, 1892), 80) Ranvier (Compt. rend., Bd. 110, 1890), 81) Pfeffer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), 82) Stein (Zeit. wiss. Mikr.,

Bd. 1, 1884), [83]) Kraus (Centr. Bakt., Bd. 23, 1898), [84]) Stricker (Wien. med. Jahrb., 1871), [85]) Thoma (Virch. Arch., Bd. 74, 1878), [86]) Hayem (cit. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), [87]) Molisch (Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen, cit. nach Oest. Chemiker-Ztg., 1898), [88]) Verworn (Pflüger's Arch., Bd. 45, 1889, und Allgem. Physiologie, Jena 1895), [89]) W. Kaiser (Sitz. Akad. Wiss., Wien 1895), [90]) Schaper (Zeit. wiss. Mikr. Bd. 15, 1898), [91]) Cori (Zeit. wiss. mikr. Bd. 12, 1895).

Erik Müller, Stockholm.

Lebensreaktion nach Löw siehe Eiweissstoffe in Pflanzenzellen.

Leber. Um Leberzellen in frischem Zustand zu untersuchen genügt es einfach mit einem Skalpell über die frische Schnittfläche zu streichen und den erhaltenen Gewebssaft unter das Deckglas zu bringen. Man wird, wenn angängig, am besten dazu die Leber von Thieren wählen, die gut ausgeblutet sind.

Als Fixationsmittel für die Leber sämmtlicher Wirbelthiere steht obenan das Sublimat und die Sublimatgemische, eine Ausnahme macht nur die Leber vieler Fische, vor allem der Selachier, die sich ihres enormen Fettgehaltes wegen zur Sublimatfixation nicht empfiehlt, hier wählt man besser Formol, Carnoy, oder Alkoholchloroform (Holm). Für die meisten Wirbelthiere leistet am meisten die koncentrirte Sublimatlösung in 0,6%iger Kochsalzlösung, nur für Amphibien empfiehlt sich ein Zusatz von 0,5—1% Eisessig. Die chromsauren Salze, am besten in Verbindung mit Sublimat haben den Vortheil, dass sie die Gallenbestandtheile, besonders bei den Fleischfressern besser konserviren, als das reine Sublimat, ihre Anwendung dürfte deshalb in vielen Fällen indicirt sein. Etwas ähnliches gilt vielleicht auch von dem Formol.

Zum Nachweis des Glykogens können fixirte Präparate nicht benutzt werden, hier muss man entweder frische Rasirmesser- oder Doppelmesserschnitte anfertigen oder zu dem Gefriermikrotom greifen. Die Färbung gelingt leicht mittels Jodjodkalium oder Joddämpfen oder Methylviolett, in welchem sich Glykogen intensiv braun färbt. Die Präparate lassen sich leider auf die Dauer nicht konserviren, doch halten sie sich in Gummiglycerin oder Lävulose immerhin eine Zeitlang.

Zur Konservirung des Fettes muss man zur Osmiumsäure greifen. Von den Osmiumgemischen empfehlen sich für die Leber vor allem die Flemming'sche Flüssigkeit und das Altmann'sche Osmiumbichromatgemisch. Beide geben für die Leber der Amphibien insbesondere instruktive Bilder.

Die Gallenkapillaren können auf verschiedene Art sichtbar gemacht werden: durch Injektion, Imprägnation und Färbung. Man kann einmal von dem Ductus choledochus oder noch besser von der vorher entleerten Gallenblase aus mit einer leichtflüssigen Masse, am besten mit löslichem Berlinerblau injiciren und wird bei vorsichtigem Vorgehen neben massenhaften Extravasaten auch gut injicirte Kapillaren erhalten. Mehr als diese künstliche Injektion empfiehlt sich aber die physiologische Injektion von indigschwefelsaurem Natron. (Näheres siehe Injektion, physiologische.)

Mit ihr wird man bei allen Wirbelthierklassen verhältnissmässig gute Resultate erhalten, am leichtesten bei Frosch, Krähe und Hund. Recht schöne, aber wenig zuverlässige und beweisende Bilder vom Verlauf der Gallenkapillaren liefert die Golgi-Methode. (Näheres s. dort.) Von denjenigen Färbungen, die für unsere Zwecke in Betracht kommen, leistet die Eisenhämatoxylinfärbung von M. Heidenhain entschieden das Meiste, doch hängt hier sehr viel von der Fixation ab. Man verwendet am besten frisch hergestellte koncentrirte Sublimatlösung oder Zenker'sche Flüssigkeit körperwarm. Leber von hungernden Thieren giebt meist bessere Resultate, als von gefütterten Thieren. Noch besser wirkt eine kurzdauernde (24 Stunden) Ligatur des Ductus choledochus. Neben der Eisenhämatoxylinmethode leistet aber auch

die EHRLICH-BIONDI'sche Dreifachfärbung Vorzügliches, besonders wieder bei der Amphibienleber. Hier springen die Kapillarwände bei richtiger Ausführung der Methode ausserordentlich scharf und distinkt roth gefärbt hervor. Auch die WEIGERT'sche Neurogliamethode liefert auf die Leber angewandt recht hübsche Bilder der Gallenkapillaren.

Eine natürliche Injektion der Gallenkapillaren erhält man durch Vergiftung der Thiere mit Toluylendiamin.

Das intralobuläre Bindegewebe der Leber, die sog. Gitterfasern, lassen sich mittels einer modificirten GOLGI-Methode darstellen, entweder benutzt man nach OPPEL Alkoholmaterial und legt die Stückchen für 24 Stunden in $^1/_2$%iges Kaliummonochromat, spült in ganz dünner Silbernitratlösung ab und legt in $^3/_4$%ige gleiche Lösung ein oder man legt nach BÖHM frisches Material für 48 Stunden in $^1/_2$%ige Chromsäure und dann drei Tage in $^3/_4$%iges Silbernitrat.

Zur Darstellung der Lebernerven hat man sowohl die GOLGI-Methode als auch die Methylenfärbung herangezogen. BERKLEY legt dünne Scheibchen ganz frisch in eine mit gleichen Theilen warmen Wassers verdünnte koncentrirte Pikrinsäure für 15—30 Minuten, dann direkt in eine im Sonnenlicht gesättigte, wässerige Bichromatlösung, die auf 100 Theile 16 Theile 2%ige Osmiumsäure enthält. Nachdem die Stücke 48 Stunden im Dunkeln in dieser Lösung verweilt haben, kommen sie erst in $^1/_4$%ige, dann in $^3/_4$%ige Silbernitratlösung. Uns hat die vorstehende Methode trotz vielfacher Versuche niemals ein positives Resultat ergeben. Etwas besser fielen dagegen die Färbungen mit Methylenblau auf dem Objektträger aus, doch haben die Leberzellen leider die unangenehme Eigenschaft, sich so lebhaft mit dem Farbstoff zu färben, dass bald alles andere verdeckt wird. Sehr vollständige Methylenblaufärbungen scheint KOROLKOW erzielt zu haben bei der Taube, doch hat er leider über die Technik gar nichts angegeben.

Die in ihrer Natur wohl immer noch nicht ganz sicher gekannten Sternzellen der Leber lassen sich durch Injektion von Tusche- oder Karminaufschwemmungen leicht darstellen, wobei die fraglichen Zellen sich stark mit dem Farbstoff beladen. Viel schwieriger ist die Vergoldung dieser Zellen nach ROTHE und KUPFFER. Man fertigt von der frischen Leber Gefrier- oder Doppelmesserschnitte an, bringt sie für 10 Minuten in ganz dünne Chromsäure ($^1/_{2000}$—$^1/_{10000}$) und dann in 0,01%iges Goldchlorid mit einem Zusatz von 0,01% Formol oder officineller Salzsäure für 36 Stunden ins Dunkle. Die Schnitte werden dann in 0,1—0,2%iger Ameisensäure reducirt, Alkohol, Nelkenöl, Balsam.

Litteratur: HERING (STRICKER's Handbuch der Lehre von den Geweben, Leipzig 1871), R. KRAUSE (Arch. mikr. Anat., Bd. 42, 1893), HOLM (Zool. Jahrb., Bd. 10, 1897), PESZKE (Inaug.-Diss. Dorpat. 1874), GEBERG (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 10, 1893), RETZIUS (Biologische Untersuchungen, N.F. 4, Bd. 9, 1892), OPPEL (Anat. Anz., Bd. 5, 1890), BÖHM (Sitz. Ges. Morph. Physiol. München 1889), ROTHE (Inaug.-Diss. München 1882), v. KUPFFER (Arch. mikr. Anat., Bd. 54, 1899).

Lecithin. Das Lecithin ist ein fettartiger Körper, der sich in allen thierischen Zellen, vor allem aber in den Nervenzellen, dem Myelin der Nervenfasern, dem Dotter und sehr weit verbreitet auch im Pflanzenreich findet. Es ist in Alkohol, Aether, Chloroform und Benzol löslich, in Wasser unlöslich. Trägt man Lecithinkrystalle in Wasser ein, so quellen sie auf und liefern Myelinformen, ähnlich wie die absterbende Nervenfaser. Mit Osmiumsäure behandelt schwärzt sich das Lecithin, doch ist das eine durchsichtige Schwärzung, während Fett ein Deckschwarz liefert. Behandelt man Lecithin zuerst mit Chromsalzen und dann mit Osmiumsäure, so verliert es im Gegensatz zum Fett die Fähigkeit sich zu schwärzen. Bei der WEIGERT'schen Markscheidenfärbung giebt das Lecithin die Farbe sehr rasch ab.

Leinöl, Oleum lini, wird hergestellt durch Auspressen des Samen von Linum usitatissimum. Sein specifisches Gewicht beträgt 0,94, sein Brechungsindex 1,47. Es ist zu 20% in absolutem Alkohol löslich, ausserdem in Aether, Petroleumäther und Schwefelkohlenstoff. Lässt man Leinöl in dünner Schicht trocknen, so wird es fest und verwandelt sich in das in den vorhergenannten Medien unlösliche Linoxin. Durch Kochen von Leinöl mit Metalloxyden (Blei, Zink etc.) erhält man den noch rascher trocknenden Leinölfirnis. Durch anhaltendes Kochen von Leinöl unter Zusatz von verdünnter Salpetersäure erhält man eine harte Masse, die in warmem Wasser knetbar ist. Schwefel löst sich in Leinöl zu einer zähen, in Terpentinöl löslichen Masse.

Das Leinöl dient in der Mikrotechnik hauptsächlich zur Herstellung von Deckglaskitten; auch als Einschlussmedium ist es empfohlen worden.

Lepidopteren siehe Arthropoden.

Leprabacillus. In leprösen Krankheitsprodukten wurde zuerst von Hansen (1874) ein Stäbchen beschrieben, aber erst Neisser (1879) brachte den einwandsfreien Beweis, dass fast in allen Organen Lepröser ein dem Tuberkelbacillus ähnlicher Bacillus und zwar nur dieser gefunden wird. Seitdem ist durch zahlreiche Untersuchungen bei jeder Form von Lepra dieser Bacillus nachgewiesen worden, so dass man an seiner Specifität nicht mehr zweifelt.

Er ist leicht zu finden bei der tuberösen Form der Lepra, schwerer, aber auch hier gelingt es fast immer, bei der anästhetischen. In den Knoten ist er so zahlreich vorhanden, dass es zur Sicherung der Diagnose meist genügt, nach Einstich in den Knoten etwas Blut und Gewebssaft herauszupressen, auf Objektträger zu fixiren und mit den gebräuchlichen Methoden zu färben.

Der Leprabacillus ist ein solides Stäbchen, welches dem Tuberkelbacillus in Aussehen und Färbung gleicht. Der Ansicht Unna's, dass der Leprabacillus als eine Reihe von Kokken (Coccotrix) zu deuten sei, können wir nicht beipflichten. Er ist ebenso gross und breit, ist ebenfalls oft gekörnt, zeigt aber auch ebenso oft solide Stäbchenform. Er unterscheidet sich von ihm insofern, als sich öfter Formen finden, welche an einem Ende zugespitzt oder aufgequollen sind. Selten sieht man beim Leprabacillus die gekrümmte Form wie beim Tuberkelbacillus. Im allgemeinen färbt und entfärbt sich der Leprabacillus leichter und ist meist in grösseren Anhäufungen (Garben-, Cigarrenbundform) zu finden. Verzweigungen sind auch beim Leprabacillus beschrieben worden (Babes).

Der Leprabacillus färbt sich in Ausstrich- und Schnittpräparaten (Celloidin und Paraffin) wie der Tuberkelbacillus mit den gebräuchlichen Anilinfarben: Fuchsin, Safranin, Gentianaviolett, Methylviolett, Methylgrün, Malachitgrün, Dahlia, polychromem Methylenblau, Methylenblau. Färbezeit: mehrere Minuten bis mehrere Stunden. Man kann entfärben mit Wasser, Alkohol, schwach saueren Lösungen, doch lässt sich eine bestimmte Zeit dafür nicht angeben. Der Bacillus färbt sich in Osmiumsäurelösungen bräunlich, die Körner im Bacillenleib sind meist dunkler tingirt. Fixirung von Gewebsstücken in Osmiumsäurelösungen bräunt nicht alle Bacillen.

Koch's Vorschrift für Tuberkelbacillen (s. d.) ist nicht ganz sicher, besser die Ehrlich'sche Methode, Gram, Gram-Weigert, Ziehl-Neelsen (siehe Tuberkelbacillen). Ferner Babes: Anilinwasser-Safranin, Jodjodkalium, Alkohol, Methylenblau (gut und zuverlässig). Israel (für Tuberkelbacillen, von Doutrefepont für Leprabacillen angewandt): Hämatoxylin oder Hämalaun, Karbolfuchsin, Jodjodkali, Anilin, Xylol, Balsam. Karbolfuchsin lässt sich ersetzen durch Anilinwasserfuchsin (giebt eine hellrothe Färbung der Bacillen. Verf.).

Die beiden letzten Methoden wie die nach ZIEHL-NEELSEN lassen sich kombiniren mit einer Nachfärbung nach VAN GIESON oder HANSEN (Pikrinsäurefuchsin).

UNNA hat eine besondere Methode zur Färbung des Leprabacillenschleims angegeben (Mon. prakt. Dermat. 1898, Bd. 26, pag. 20). Fixirung der frischen, möglichst kleinen Knotenstückchen in 1⁰/₀iger Salpetersäure 2 Stunden, Härtung in Alkohol, Einbettung in Celloidin, Entfernung des Celloidin aus den Schnitten. Die Schnitte werden auf Objektträger mässig angetrocknet, Färbung in Karbolfuchsin, Abspülen in Wasser, 33⁰/₀iger Salpetersäure, Spiritus dilutus und Wasser, wobei sie allmählich in ein Schälchen schwach rosa gefärbt, zurückgespült werden. Färbung des Protoplasma, der Kerne, des Kollagen und des Bacillenschleims mit polychromer Methylenblaulösung 1/2 Stunde im Schälchen, Abspülung in Wasser. Ent- und Umfärbung des Kollagen durch neutrale 1⁰/₀ige Orceïnlösung (GRÜBLER) 1/2 Stunde, Abspülung in absolutem Alkohol 5 Minuten, Wasser. Der Schnitt wird auf dem Objektträger mit Fliesspapier angetrocknet und mit Anilinöl + 1⁰/₀ Salpetersäure so lange entfärbt, bis der Schnitt einen reinen Orceïnton annimmt, Abspülen in Anilinöl, Xylol und Einbettung in harten Kanadabalsam, welcher vorher durch Kochen mit Chloroform von ätherischen Oelen befreit ist und durch Erwärmung verflüssigt wird. (Nur in solchem Balsam hält sich die Färbung der Leprabacillen unbeschränkt.) Die Methode ist schwierig und hat uns selbst trotz mehrfacher Nachprüfungen keine befriedigenden Resultate ergeben.

UNNA will durch die Methode bewiesen haben, dass die Gloëa nur aus theils rothen (lebenden), theils blauen (abgestorbenen) Bacillenleibern besteht, dass also eine Zwischensubstanz, welche von anderen Autoren als degenerirtes Zellprotoplasma angesehen wird, nicht existirt.

Die zur Differentialdiagnose zwischen Lepra- und Tuberkelbacillen angegebenen Methoden sind nicht sicher, jedenfalls lassen sie gerade dann im Stich, wenn wenig Bacillen vorhanden sind.

Alle Kulturversuche sind bisher missglückt. Es gelingt wenigstens nicht, auf den bekannten Nährböden ein sicheres Wachsthum von alkohol- und säurefesten Stäbchen, welche man für Leprabacillen halten muss, zu erzielen. Ebenso sind einwandsfreie Thierversuche bisher nicht berichtet.

Klingmüller, Breslau.

Leptonin siehe Enzyme.

Leucin ist ein Zersetzungsprodukt der Eiweisskörper und des Leimes. es ist eine Amido-Isokapronsäure.



$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} \rangle CH - CH_2 - CH(NH_2) - CO . OH$$

Es tritt in Form von Knollen, Kugeln und Krystallbüscheln auf, ist in Wasser zu 3—4⁰/₀, in kaltem Alkohol sehr wenig löslich, in Chloroform und Benzol unlöslich. Es findet sich normalerweise nur in Spuren im Pankreas. tritt aber in grösseren Mengen bei pathologischen Processen in der Leber und im Harn auf, ausserdem findet es sich in alten Eiterherden und in Atherombälgen. Auch im Darm vieler Arthropoden ist es gefunden worden.

Zur Erkennung des Leucins dient neben seiner eigenartigen Krystallform hauptsächlich die SCHERER'sche Probe: man verdampft mit Salpetersäure auf dem Platinblech, dann setzt man einige Tropfen Natronlauge zu und erhitzt weiter, es bildet sich dann eine ölige Flüssigkeit.

Leucin tritt auch als pflanzliches Amid in den Keimpflanzen verschiedener Leguminosen auf. Durch seinen Schmelzpunkt, durch das sofort erfolgende Sublimiren und durch die BORODIN'sche Probe lässt es sich von dem Asparagin unterscheiden.

Litteratur: Borodin (Arbeiten der St. Petersburger Naturforschenden Gesellschaft. Bd. 13, ref. Bot. Centr. Bd. 17, 1884).

Leukocyten siehe Blut.

Leukoplasten siehe Chromatophoren, pflanzliche.

Lichtblau, Syn. für Diphenylaminblau (Höchst), wohl auch für Anilinblau, Bleu lumière.

Lichtgrün, Natriumsalz der Dimethyl- oder Diäthyldibenzyldiamidotriphenylcarbinoltrisulfosäure. Syn. Säuregrün (Ludwigshafen). Ein Abkömmling des Benzaldehydgrüns. Grünes, in Wasser und Alkohol lösliches Pulver, in Schwefelsäure mit brauner Farbe löslich. Die wässerige Lösung färbt sich bei Zusatz von Salzsäure gelbbraun, bei Zusatz von Natronlauge entfärbt und trübt sie sich.

Dient in der Wollfärberei im schwefelsauren Bad hauptsächlich zum Nüanciren anderer Färbungen.

Das Lichtgrün ist ein vorzüglicher Plasmafarbstoff vor allem für Flemming- und Hermann-Präparate und als solcher in Verbindung mit Safranin von Benda in die Mikrotechnik eingeführt. (Näheres siehe Safranin.) Peter verwendet es auch in 0.25%iger Lösung in absolutem Alkohol zur Nachfärbung von Eisenhämatoxylinpräparaten von Hermann-Material des Hodens. Die Zellgrenzen sollen dadurch schärfer hervortreten.

Litteratur: Peter (Arch. mikr. Anat., Bd. 53, 1898).

Lignin siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Linaloëöl, Aloëholzöl, gewonnen durch Destillation aus dem Holze von Bursera Delpechiana, einer in Amerika vorkommenden Burseracee. Oel von anfangs wenig angenehmem Geruch, der beim Stehen an der Luft besser wird, vom spec. Gew. 0,87—0,89. Hauptbestandtheil des Oels ist das Linalool, $C_{10} H_{17}$—OH.

Nach Jordan, der das Oel auf seine Verwendbarkeit zum Aufhellen von Celloidinschnitten untersucht hat, ruft Zusatz von 96%igem, 93%igem Alkohol, sowie von zwei Theilen 96%igem und einem Theil 70%igem Alkohol keine Trübung hervor; 80%iger Alkohol erzeugt eine nach einer Minute verschwindende Trübung. Siehe Celloidin.

Litteratur: H. Jordan (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 25, 1898). *Mosse,* Berlin.

Linin siehe Zellchemie.

Linse siehe Sehorgan.

Lipasen siehe Enzyme.

Lipochrome siehe Fettfarbstoffe.

Lipocyankrystalle siehe Fettfarbstoffe.

Liquidambar, ein Harz, das im rohen Zustande eine schmierige dem Styrax ähnliche Masse darstellt, ist von van Heurck als Ersatzmittel des Kanadabalsams als Einschlussmittel empfohlen worden. Der rothe Liquidambar muss für den Gebrauch in der Wärme durch eine Mischung von gleichen Theilen echten Steinkohlenbenzins und absoluten Alkohols gelöst werden; die Lösung wird filtrirt, durch die Lösungsmittel verdünnt und in ziemlich dünnflüssigem Zustand benutzt. Debes empfiehlt die Lösung des Harzes in gutem Benzin, Benzol, Toluol oder Xylol; dann wird durch Papier filtrirt. Peragallo löst in Benzin oder einem Gemisch von Benzin und absolutem Alkohol.

Von allen drei Autoren ist dieses Harz, das einen hohen Brechungsindex hat, als Einschlussmittel für Diatomeen angewandt worden.

Litteratur: Debes (Hedwigia, Bd. 24), van Heurck (Bull. Soc. belge Micr., Bd. 10, 1884), Peragallo (Journ. Micrograph., Bd. 13, 1889). *Mosse,* Berlin.

Lithiumkarbonat, Lithium carbonicum: Li_2CO_3, weisses, krystallinisches Pulver, das sich bei 20° zu 1,8% zu einer alkalisch reagirenden Flüssigkeit (Lithionwasser) löst. In Alkohol ist es unlöslich.

Das Lithionwasser wird als mildes Alkali in der Mikrotechnik vielfach zum Neutralisiren von Säuren, zum Ausziehen vieler Farbstoffe (Säurefuchsin, Kernschwarz, Anilinblau etc.), zum Auswaschen von Hämatoxylinpräparaten benutzt. Es ist ein gutes Lösungsmittel für Karmin. Da das Pikrat des Lithiums in Alkohol und Wasser sehr leicht löslich ist. so benützt man Lithiumkarbonat auch zum Entfernen der Pikrinsäure aus den Präparaten. (Näheres siehe Pikrinsäure.)

Lithionkarmin siehe Karmin.

Lösliches Blau, unter diesem Namen wird theils ein wasserlösliches Anilinblau, theils Echtblau verstanden.

Lösliche Stärke in Pflanzen siehe Stärke.

Löw und Pokorny'sches Reagens siehe Eiweissstoffe in Pflanzenzellen.

Luftpumpe. Die Luftpumpe kann in der Mikrotechnik, am besten in der Form der bekannten Wasserstrahlpumpen vielfach Verwendung finden. Wenn es sich darum handelt, Objekte mit grossen lufthaltigen Hohlräumen, z. B. Felsenbein, Nasenhöhle, Kehlkopf etc. in toto zu fixiren, so ist es oft ausserordentlich schwer, die Luft aus jenen Räumen zu entfernen und der Fixationslösung Eingang zu verschaffen. Hier leistet dann die Fixation im luftverdünnten Raum vorzügliche Dienste, nur soll man immer mit dem Auspumpen der Luft möglichst langsam und schonend vorgehen. Man erreicht aber durch das Evakuiren auch ein leichteres Eindringen aller folgenden Flüssigkeiten einschliesslich des Einbettungsmittels, was bei grösseren Celloidinpräparaten von nicht zu unterschätzendem Vortheil ist.

Speciell bei der Einbettung selbst hat man das Evakuiren vielfach empfohlen, besonders für die Paraffineinbettung, wenn es sich um ein leicht flüchtiges Intermedium handelt. Man kann dann kleine Exsiccatoren verwenden, welche man mit leicht schmelzbarem Paraffin füllt und in den Thermostaten bringt. Wenn sich das Präparat in dem geschmolzenen Paraffin befindet, wird dann evakuirt und dadurch ein rascheres Eindringen des Paraffins erreicht. Bei allen diesen Versuchen darf man nicht vergessen, zwischen Wasserstrahlpumpe und Exsiccator eine Waschflasche einzuschalten, um das leicht eintretende Rückschlagen von Wasser in den Exsiccator zu vermeiden.

Luftröhre siehe Kehlkopf.

Lugol'sche Lösung siehe Jodkalium.

Lunge Um die Lungenalveolen in ausgedehntem Zustande zu fixiren, empfiehlt es sich, dio Fixationsflüssigkeit mittels eines in die Trachea eingebundenen Trichters zu injiciren. Man kann dabei entweder das ganze Organ in situ belassen oder aber die Lunge in Verbindung mit der Luftröhre herausnehmen, muss aber dabei sorgfältig vermeiden, Lunge oder Trachea anzuschneiden. Der Trichter wird mit der Flüssigkeit gefüllt und hochgehalten, ein Theil der Luft entweicht dabei in Form von in der Flüssig-

keit aufsteigenden Blasen, ein anderer Theil diffundirt aus dem Lungengewebe selbst und ein grosser Theil wird in dem Lungengewebe zurückgehalten. Will man alle Luft aus der Lunge entfernen, so bindet man zunächst ein weiteres mit Hahn versehenes Glasrohr in die Luftröhre ein und saugt ganz langsam die Luft aus, bis die Lungen stark kollabirt sind. Dann wird der Hahn geschlossen und der mit der Fixationslösung gefüllte Trichter durch einen kurzen Gummischlauch mit dem Rohr verbunden. Durch vorsichtiges Oeffnen des Hahns lässt man die Flüssigkeit langsam in die Trachea einlaufen. Man kann auch die Lungen so luftleer bekommen, dass man das lebende Thier unter eine Glasglocke setzt und Kohlensäure einleitet (Hansemann).

Als Fixationsflüssigkeit empfiehlt sich vor allem der absolute Alkohol. Die Lunge wird mit Alkohol gefüllt und dann in ein passendes, ebenfalls mit absolutem Alkohol gefülltes Glas aufgehängt. Natürlich lassen sich auch Sublimat oder Sublimatgemische mit Vortheil benutzen.

Zur Darstellung des respiratorischen Epithels kann man auf die oben angegebene Weise 0,2—0,5%ige wässerige Lösung von Silbernitrat oder eine Silbernitrat-Gelatinelösung verwenden. Kleine Stücke werden in destillirtem Wasser ausgewaschen und in Glycerin untersucht oder eingebettet. Oder man saugt nach einigen Minuten die eingeführte wässerige Silberlösung wieder ab, wäscht in gleicher Weise mit destillirtem Wasser nach, saugt auch dieses wieder ab und trocknet die aufgeblasene Lunge an der Luft.

Die Kittstreifen zwischen den Zellen des respiratorischen Epithels lassen sich auch so darstellen, dass man dem lebenden Thier eine gesättigte wässerige Lösung von indigschwefelsaurem Natron vorsichtig durch die Trachea in die Lungen fliessen lässt. Nach einiger Zeit tödtet man das Thier und fixirt Stückchen des Lungengewebes in absolutem Alkohol (Küttner).

Um die elastischen Fasern der Alveolarwände zu demonstriren, kann man einfach Schnitte durch die getrocknete Lunge mit Kalilauge behandeln, färberisch lassen sie sich ausserordentlich schön mittels der Weigert'schen Methode darstellen an Alkohol- oder Sublimatmaterial. Man färbt die Stückchen am besten in Boraxkarmin durch, fertigt nach der Paraffineinbettung dicke Schnitte an (20—30 μ) und färbt dieselben nach Weigert. (Näheres siehe Elastin.)

Zur Färbung der Nerven in den Lungen hat Cuccati die Methylenblaumethode benutzt, indem er in die Bauchhöhle die Lösung injicirte. Auch die Vergoldung ergiebt nach ihm brauchbare Resultate, wenn man die Goldlösung von der Glottis aus beim Frosch in die Lunge injicirt bis zur prallen Füllung, nach 20 Minuten die Lungen herausschneidet und im Dunkeln in Ameisensäure (1:4 Wasser) reducirt.

Ueber die Darstellung der Blut- und Lymphgefässe vergleiche man den Artikel Injektion.

Litteratur: Hansemann (Sitz. Preuss. Ak. Wiss., 1895), Ranvier (Technisches Lehrbuch), Küttner (Virch. Arch., Bd. 66, 1876), Linser (Anat. Hefte, 42/43, 1900), Cuccati Rend. Real. Acc. Sc. Ist. Bologna, 1888).

Lupe siehe Mikroskop.

Lymphatische Organe, Untersuchung derselben im Ausstrichpräparat.

Feinere histologische Resultate als die Schnittfärbung liefert die Untersuchung von Ausstrichpräparaten der frischen Organe. Der Organsaft wird zunächst ungefärbt untersucht; soll Druck des Deckgläschens vermieden werden, so legt man es auf zwei seitliche angetrocknete Streifchen von Kartoffelmehlkleister (Ranvier) oder Deckglaskitt (Pappenheim). Zur feineren Untersuchung werden Trockenpräparate angefertigt. Von besonderer Wichtig-

keit für diese ist es, recht frische Untersuchungsobjekte zu erhalten. Häufig wird das gewöhnlich erst mehrere Stunden nach dem Tode bei der Obduktion gewonnene Material schon etwas destruirt sein. Durch die Punktion mit dickem Troikart sehr bald post mortem erhält man frischeres Parenchym (Milz, Ehrlich). Zur Bereitung gefärbter Trockenpräparate sind dieselben peinlichen Vorsichtsmassregeln nothwendig wie beim Blut (cf. dort). Das Untersuchungsmaterial gewinnt man durch Auftupfen der Organe auf ein sauberes Deckgläschen und Ausbreitung des Parenchymsafts zwischen diesem und einem zweiten Deckgläschen. Fixirung und Färbung gleicht im grossen ganzen der beim Blut geschilderten. Da es sich bei diesen Untersuchungen meistens nicht um so lebensfrisches Gewebe handelt wie bei der Blutfärbung, finden hier neben der Trockenerhitzung auch die übrigen histologischen Fixierungen ausgedehnte Anwendung, vor allem, um einen Vergleich zwischen Schnitten des fixierten Organs und in gleicher Weise fixierten Ausstrichen des frischen Organs zu erhalten. Je nach den Zielen der Untersuchung kommen hier die verschiedensten Fixirungsflüssigkeiten in Betracht, welche entweder auf das trockene oder — nach der von Jolly — auf das soeben auf den Objektträger ausgestrichene, noch feuchte Objekt angewendet werden: in der Fixirungsflüssigkeit (bevorzugt wird 10 Minuten lange Fixirung in dem starken Flemming'schen Gemisch, danach 10 Minuten lang auswaschen in Wasser) löst sich die oberflächliche Lage in Form eines dünnen Häutchens ab, eine untere Lage aber bleibt auf dem Objektträger und kann gefärbt werden. Für den Haupttheil des Stromas, die Lymphocyten, gewinnt ausser den bei der Blutfärbung angeführten Methoden besonders die Färbung nach Romanowski an Wichtigkeit. Mit ihr färben sich die von Michaelis und Wolff in den Lymphocytenleibern beschriebenen rothen Körnchen. Die Methode, welche beim Blut beschrieben worden ist, kann auch mit Auflösungen der getrockneten Eosinmethylenblaufällung (in Methylalkohol, Jenner, Wright) vorgenommen werden. Für die Mastzellenkörnung, deren Vornahme mit alkoholischer Methylenblaulösung beim Blut bereits empfohlen worden ist, muss bei ihrer starken Wasserlöslichkeit mit besonderer Sorgfalt jede Berührung mit Wasser vermieden werden; Härtung in Alkohol und Rasiermesserschnitte, Lösungen der Farbstoffe in $50^0/_0$igem Alkohol sind erforderlich (Michaelis). Zur Untersuchung des Zellprotoplasmas empfiehlt Pappenheim seine Pyroninmethylgrünfärbung, welche in Schnitten (Alkoholhärtung) durch Behandlung mit Resorcinalkohol fixirt werden kann (danach Alkohol-Xylol-Kanadabalsam).

Die übrigen Färbungen, namentlich pathologischer Bestandtheile, siehe unter den diese betreffenden Rubriken. Hier sei nur noch kurz auf die Darstellung des wichtigsten derselben, des Amyloid, eingegangen. Zur Darstellung dieses Körpers dient von altersher die Färbung des ganzen Organs oder frischer Schnitte mit Jodlösungen (am besten hellgelbverdünnte Lugol-sche Jodjodkalilösung), wodurch eine weinrothe bis dunkelbraune Farbe entsteht. Durch Entwässern in einer Mischung von Alkohol 4 Theile, Jodtinktur 1 Theil, Aufhellen in Oleum origani, lässt sich diese Färbung konserviren (s. unter Färbung des Glykogens). Nachbehandlung nicht sehr stark gefärbter Schnitte mit Schwefelsäure ($1^0/_0$) bringt oft einen Uebergang der Braunfärbung in grün bis blau (scheinbar vorzugsweise bei altem Amyloid) hervor, oder wenigstens eine Vertiefung der Braunrothfärbung. Sehr klar. aber weniger eindeutig und an gehärtetem Material vorzunehmen, auch bis zu einem gewissen Grade haltbar, sind die Färbungen mit Anilinfarben; namentlich das Methylviolett lässt das Amyloid schön violett bis roth gegen das blaue Gewebe hervortreten.

Zur Bakterienfärbung dienen die gewöhnlichen Methoden mittels Anilinfarben. Für Tuberkelbacillen sind Anilinwassermischungen den Karbol-

lösungen vorzuziehen, eventuell mit nachfolgender Fixirung der Farbe mit Tanninorange oder Tanninwasserblau nach UNNA-DELBANCO.

Litteratur (cf auch Litteratur bei Blut): JENNER (Lancet, 1889), JOLLY (Arch. médec. expér., 1902), MICHAELIS (Münch. med. Woch., 1902), MICHAELIS & WOLFF (VIRCH. Arch., Bd. 167, 1902), UNNA-DELBANCO (Deutsch. Medicinalzeit., 1898), WRIGHT (Journ. Med. Research, Bd. 7, 1902). *Pinkus*, Berlin.

Lymphdrüsen. Zur Fixation der Lymphdrüsen ist vor allem die FLEMMING'sche Flüssigkeit empfohlen worden (RAWITZ, SCHUMACHER), doch liefern auch Sublimatgemische recht gute Resultate, HOYER fixirt in koncentrirtem Sublimat, SCHUMACHER in Pikrinsublimat, RETTERER in ZENKERscher Flüssigkeit, THOMÉ nach Vorfixation in 4%igem Formol ebenfalls in ZENKER. Die letztere hat den Vorzug, dass sie das Hämoglobin besonders gut fixirt.

Zur Färbung empfehlen sich die FLEMMING'sche Dreifachfärbung, Eisenhämatoxylin mit Rubinnachfärbung und die EHRLICH-BIONDI'sche Dreifachfärbung. SCHUMACHER bevorzugt die Doppelfärbung mit Methylblaueosin, RAWITZ seine Tannin-Brechweinstein-Fuchsinmethode.

Um das Endothel auf den Trabekeln darzustellen, injicirt man, am besten beim Hund, in eine Halslymphdrüse durch Einstich 0,1—0,3%ige Lösung von Silbernitrat, bringt die Drüse auf das Gefriermikrotom und reducirt die damit hergestellten Schnitte am Licht in verdünntem Glycerin (RANVIER). Zur Darstellung der Retikulumzellen und -fasern empfiehlt THOMÉ (1902) Fixation in ZENKER'scher Flüssigkeit und Färbung der Schnitte nach Paraffineinbettung in Phosphormolybdänhämatoxylin. Die Schnitte werden zuerst 10 Minuten in 10% Phosphormolybdänsäure gebracht, dann kurz in Wasser ausgewaschen und in folgende Farblösung für 5—20 Minuten übertragen: Hämatoxylin 1,75 Grm., dest. Wasser 200 Ccm., 10% Phosphormolybdänsäure 10 Ccm., krystall. Karbolsäure 5 Grm. Nach der Färbung kurz in Wasser auswaschen, Alkohol, Xylol, Balsam. Retikulumfasern dunkelblau, Zellkörper hellblau.

Ausserdem vergleiche man die Artikel Adenoides Gewebe, Injektion und Milz (Ausstrichpräparate).

Litteratur: FLEMMING (Arch. mikr. Anat., Bd. 24), RAWITZ (Ebenda, Bd. 45, 1894), SCHUMACHER (Ebenda, Bd. 48, 1896), RETTERER (C. v. Assoc. Anatom., III. Session, Lyon, Nancy 1901), THOMÉ (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), RANVIER (Technisches Lehrbuch), HOYER (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1889), DEMOOR (Arch. Biol., Bd. 13, 1891), SAXER (Anat. Hefte, 19/20, 1896). THOMÉ (Jena. Zeit. Nat., Bd. 37, 1902).

Lysol. Lysol ist eine 50%ige Lösung der Kresole des Theeröles in neutraler Seife. Dasselbe findet in $^1/_4$—2%iger wässeriger Lösung als Antisepticum in der medicinischen Praxis Verwendung, ist aber im Gegensatz zur Angabe der Fabrikanten keineswegs ungiftig. Koncentrirt soll dasselbe, in alkoholischer Lösung mit Phenolpthaleïn geprüft, neutral sein. In wässeriger Lösung reagirt dasselbe stark alkalisch. Koncentrirt koagulirt es Hühnereiweiss, durch Verdünnung mit Wasser verliert sich diese Wirkung mehr und mehr bis sie bei schwacher Lösung gänzlich aufhört.

Eine 10%ige Lysollösung wurde von FR. REINKE zur Darstellung gewisser histologischer und cytologischer Verhältnisse verwandt. Diese Verwendbarkeit beruht auf der quellenden und macerirenden Wirkung der Seifenlösung, welche durch den Kresolgehalt in nicht näher zu definirender Weise gehemmt wird, so dass wir dieses als »Verzögern« anzusehen haben. Dabei wäre allerdings nicht auszuschliessen, dass das Kresol auch Gerinnung veranlassen könnte. Es handelt sich also beim Lysol um ein Macerations- und Isolationsmittel und durchaus nicht um ein Fixationsmittel. A. FISCHER, der dasselbe unberechtigterweise als solches ansieht, verwirft seine Verwendung als artefaktverdächtig. Damit rennt dieser Autor nur selbstaufgestellte Papp-

wände ein, denn darüber braucht man keine Worte zu verlieren, dass ein Quellung und Maceration hervorrufendes Mittel Artefakte macht. Das thut Kalilauge und thun die verdauenden Flüssigkeiten auch und doch verwendet man sie mit Erfolg für gewisse Zwecke. Niemals kann daher Lysol mit unseren guten Fixations- und Färbemitteln zur Darstellung histologischer Verhältnisse in Konkurrenz treten, da es ganz andere Zwecke verfolgt. Da wir aber nur über eine verhältnissmässig kleine Anzahl von brauchbaren Macerationsmitteln verfügen, so wird Lysol, in verständiger Weise angewandt, für gewisse Zwecke von gutem Nutzen sein können. Ich verwandte Lysol in 10%iger wässeriger Lösung oder gegebenen Falles, um die Macerationswirkung der Seife noch mehr zu hemmen, mit Zusatz von Alkohol (Lysol 10, Aq. dest. 55, Alkohol [95%] 35). Ist eine stärkere Aufhellung erwünscht, so empfiehlt sich ein Zusatz von Glycerin (Lysol 10, Aq. dest. 45, Alkohol [95%] 35, Glycerin 10).

Um einige Beispiele der Verwendbarkeit dieses Macerationsmittels anzuführen, so gelang es mir, mit ihm die Fibrillen im Schwanz der Spermien zu isoliren, ebenso die Fibrillen im untersten Ende der Bindensubstanz des Haarschaftes, die Fibrillen glatter Muskelfasern und manche Fasern in Epithelzellen. Wohl mit keinem anderen Mittel erhält man den »Scheibenzerfall« der Aussenglieder der retinalen Stäbchenzellen so klar wie mit diesem. Manche Glashäute, wie z. B. die Descemet'sche Membran der Kornea, sowie die Linsenkapsel lassen sich, wenn auch nicht ganz leicht durch Lysol in Lamellen zerlegen. Selbstverständlich lässt es sich, wie Kalilauge, zur Darstellung der elastischen Fasern verwenden. Auch die Kapsel der Knochenkörperchen lässt sich an genügend dünnen Knochenlamellen junger Thiere gut mit Lysol demonstriren. Sehr schöne Bilder der feinsten kollagenen Bindegewebsfibrillen erhielt ich mit der alkoholischen Lösung.

Im Hinblick auf diese Wirkungsweise dürfte sich überall dort ein Versuch mit Lysol empfehlen, wo es dem Untersuchenden darauf ankommt, gewisse resistentere Differenzirungen sichtbar zu machen oder zu isoliren, um dieselben mit Resultaten, die durch Färbung oder sonst wie gewonnen sind, zu vergleichen. Auf Angabe der Zeiteinwirkung glaube ich deshalb verzichten zu sollen, da dieselbe ganz von dem betreffenden Objekt abhängt. Die Wirkung eines derartigen Quellung machenden Macerationsmittels hängt naturgemäss von der Differenz der Einwirkung auf die Strukturtheile ab. Wir können die elastischen Fasern im Bindegewebe durch Kalilauge bekanntlich deswegen so gut darstellen, weil die kollagenen Fibrillen durch Quellung unsichtbar werden, obschon sie bekanntlich keineswegs aufgelöst werden. Wären beide Arten Fasern gegen Kalilauge in gleichem Masse wenig resistent und gleich dick, so würden sie nach der Einwirkung dieses Mittels bald beide nicht mehr zu sehen sein. So ist es auch mit der Einwirkung des Lysols, auch hier handelt es sich um Differenzen in der Resistenzfähigkeit des Objektes. Geht die Quellung so weit bis zur Auflösung der Zwischensubstanz, so kommt es zur Isolation der resistenteren Theile, ein Verhalten, wie wir es an den Fibrillen der unteren Rindenzellen des Haares sehen. Das Kresol selbst wirkt, das ist wohl zu beachten, wahrscheinlich im Gegensatz zu den Seifen, welchen der quellende und macerirende Einfluss zuzuschreiben ist, als Verzögerer. Es muss dahin gestellt bleiben, ob dabei auch eine Gerinnung wenigstens unter Umständen eintreten kann. Als Verzögerer ist auch der Zusatz von Alkohol anzusehen, wodurch die Anwendung dieser Mischung sich von selbst ergiebt.

Von biologischem Interesse ist die Wirkung der 10%igen Lysollösung auf die ruhenden Zellkerne, welche von A. Zimmermann und A. Fischer nicht richtig aufgefasst und deshalb als artefaktverdächtig verworfen wird. Es handelt sich auch hier keineswegs um einen Fixationsvorgang des Proto-

plasmas, sondern um eine ganz andere Wirkungsweise. Zunächst zeigt sich, dass die Membran des ruhenden Kernes (die Untersuchungen wurden in erster Linie an den grossen Kernen der Salamanderlarve angestellt), welche man bisher als eine homogene Membran ansah, ein feines Retikulum bildet.

Ich glaube, man kann daraus mit Recht schliessen, dass auch im lebenden Zustande dieselbe kein vollständiges Kontinuum bildet, sondern Poren oder irgendwie schwächere Stellen enthält, durch welche das Innere des Zellkernes mit der Substanz des Zellenleibes in Verbindung steht. Zweifellos ist dieses Retikulum nach Lysolbehandlung ein Artefakt, aber man ist eben berechtigt, aus solchen Macerationsresultaten auf den natürlichen Zustand Rückschlüsse zu machen, ebenso wie man berechtigt ist, durch Zerfällung der Muskelfaser in Fibrillen auf einen fibrillären Bau zu schliessen. Ferner zeigen zahlreiche diskrete feine Körner oder Vakuolen im Kernsaft eine unter dem Auge des Beobachters sich vollziehende Quellung, so dass dieselben jetzt sehr deutlich sichtbar werden. Ich sage Körner oder mit Flüssigkeit gefüllte Vakuolen, denn über den Aggregatzustand dieser Kügelchen lässt sich nichts Bestimmtes sagen, doch möchte ich vermuthen, dass sie zunächst mehr gelatinös sich durch die Quellung mehr und mehr verflüssigen. Wie A. Fischer bemerkt, wird durch die 10%ige Lysollösung kein einziger von ihm geprüfter Eiweisskörper (Deutroalbuminose, Serumalbumin, Kaseïn, Nukleïnsäure, Hämoglobin) gefällt. Wäre dies richtig, so folgte offenbar, dass wir es in diesen Körnern nicht mit derartigen Fällungsprodukten zu thun hätten, höchstens könnte man die Frage diskutiren, ob es nicht Entmischungsprodukte wären. Zweifellos sind diese gequollenen Kügelchen Artefakte in dem Sinne, dass sie im lebenden ruhenden Zellkern in dieser Form, wie wir sie nach der Einwirkung von Lysol sehen, nicht vorkommen. Dafür habe ich sie selbstverständlich von vorneherein gehalten, und wenn Fischer erklärt, »Reinke's Darstellung entbehrt jeder Kritik«, so fällt dieser Ausspruch ganz auf den Autor zurück, da es mir niemals eingefallen ist zu behaupten, dass das Lysol als Fixationsmittel dienen sollte, höchstens könnte man annehmen, dass es auch hier im Gegensatz zur Seife etwas Gerinnung macht und so als Verzögerer dient. Was ich aber aus der eigentlichen Wirkung des Lysols auf die überlebenden, ruhenden Zellkerne schliesse, und ich glaube mit einigem Recht, ist folgendes. Der sogenannte »Kernsaft«, in dem das Lysol diese geschilderte Wirkung hervorruft, kann keine einfache kochsalzhaltige Flüssigkeit mit vielleicht etwas gelöstem Eiweiss sein, sondern es müssen quellungsfähige Substanzkügelchen (diosmirende Substanz) in ihm vorhanden sein, welche in einer anders beschaffenen Grundsubstanz eingelagert sind und bei ihrer Quellung durch Lysol diese Grundsubstanz, welche nicht im gleichen Masse quillt, zusammendrängen zu einem Wabensystem, wodurch dasselbe sichtbar wird. Dieses Wabenwerk mit dem verflüssigten Inhalt lässt sich nachträglich durch Alkohol fixiren und dann färben, wobei sein Aussehen im Wesentlichen durchaus dem entspricht, was man am Lysolpräparat vor der Alkoholbehandlung sieht. Es kann also für die vorliegende Frage nicht von Belang sein, dass, wie A. Fischer meint, bei der Nachbehandlung mit Alkohol »vielerlei Kunstprodukte« entstehen können, was ja von mir niemals bestritten worden ist.

Die durch die Lysoleinwirkung nachgewiesenen stark quellbaren Substanzkügelchen im Kernsaft haben in dreierlei Hinsicht erhebliches Interesse. Erstens zeigt es sich, dass diese Kügelchen in den Kernen der verschiedenen Gewebsarten nach Zahl, Grösse und Zeit der Lysolwirkung different sind. Dies Verhalten lässt doch wohl mit vollem Recht auf eine Differenz der Kernsaftsubstanzen in den verschiedenen Arten der Kerne schliessen, sodann aber lässt sich dies Verhalten der Kernsaftsubstanzen des ruhenden Kernes in Parallele setzen mit dem Verhalten derselben im Beginne der Mitose.

Hier zeigt nämlich ein genauer Vergleich an lebenden und gut fixirten und scharf gefärbten Kernen als erstes Eintreten des mitotischen Phänomens eine physiologische Aufquellung des Kernsaftes, der eine stark diosmirende Substanz enthält, wodurch möglicherweise die Zusammenschiebung des Lininchromatingerüstes zur bekannten Knäuelfigur zum Theil mechanisch erklären lässt, obschon sicherlich ein aktives Eingreifen der übrigen Kernsubstanzen dabei im Spiel ist. Dieses Knäuelstadium des in Mitose getretenen Kernes zeigt dann auf Lysolbehandlung nicht mehr in diesem Masse jene auffallende Quellung des Kernsaftes. Ich ziehe aus diesen Thatsachen den Schluss, dass die Mitose sich durch Quellung des Kernsaftes einleitet, und glaube annehmen zu müssen, dass der Kernsaft des ruhenden Kernes eine quellbare diosmirende Substanz enthält, die ich mit dem wenig präjudicirenden Namen »Oedematin« bezeichnete, wodurch nur eine morphologisch-physiologische, nicht eine chemische Beschaffenheit des differenten Kerntheiles angedeutet sein soll. Durch derartige Untersuchungen sollen und können wir Morphologen ja zunächst nichts weiteres thun, als die nachfolgenden chemisch untersuchenden Forscher auf Differenzen in den einzelnen Theilen der Zelle aufmerksam machen. Aber auch dies immerhin bescheidene Resultat meiner Untersuchung hat seinen Werth und seine Berechtigung.

Gerade da der Weg der Fixation und Färbung schon recht gut ausgebeutet ist, so ist es werthvoll, auch einmal mit einer ganz anderen Methode an diese Dinge heranzugehen. Was das nach Alkoholbehandlung nur deutlicher sichtbar werdende Wabenwerk (denn es war schon vorher am Lysolpräparat zu sehen), des ruhenden Kernes angeht, so ist dasselbe in der vorliegenden Form sicher nicht den lebenden Verhältnissen entsprechend, denn es entsteht ja erst durch Zusammendrängen der Kernsaftgrundsubstanz, zu der ich auch das Linin rechne infolge der Verquellung der Oedematinkügelchen; aber aus dem ganzen Vorgang dürfte doch der Schluss erlaubt sein, dass wir es im lebenden Kern mit einer Grundsubstanz und anders beschaffenen Einlagerungen zu thun haben, wodurch ein Bau entsteht, den ich als pseudowabig bezeichnete. Gewiss wäre es sehr erwünscht, andere, vollkommenere Methoden der Untersuchung zu gewinnen, durch die unsere hier gewonnene Anschauung über den Bau des Kernes weiter gefördert werden könne. Auf alle Fälle aber giebt es bis jetzt keine Beobachtungen an lebendem Material und keine Fixation mit nachfolgender Färbung, welche meinen Ansichten widersprächen, so dass ich auch A. Fischer gegenüber meinen Standpunkt voll und ganz aufrecht erhalte.

Dagegen finde ich eine direkte Bestätigung des Ausgeführten in der Thatsache, welche ich vor einiger Zeit fand, dass während der Mitose ein Turgor der Zelle auftritt, und zwar der Zeit nach zusammenfallend mit der Auflösung der Kernmembran und der hiermit Hand in Hand gehenden Vermischung des Kernsaftes mit dem Marktheil des Zellenleibes, woraus der sogenannte helle Hof um die Chromosomen herum resultirt.

Diese Erscheinung, welche ich als den mitotischen Druck bezeichnete, dürfte nicht mit Unrecht ursächlich auf die beschriebenen Eigenschaften der ödematischen Substanz des Kernsaftes in erster Linie zu beziehen sein.

Drittens ist die Wirkung des Lysols auf die verschiedenen Kernarten noch in einer anderen Hinsicht interessant, und findet meine Auffassung, dass der Kernsaft einen besonderen quellbaren Stoff enthält, eine so schlagende Bestätigung, dass ich doch glauben möchte, dass dieselbe ihre volle Berechtigung hat. Wenn nämlich der ruhende theilungsfähige Kern einen solchen Quellstoff, eine stark diosmirende Substanz in seinem Saft enthält, der für die Einleitung der Mitose, also für ihre Mechanik, von Belang ist, so steht zu erwarten, dass diejenigen Kernarten, welche die Theilungsfähig-

keit verloren haben, sich auch in Bezug auf das Oedematin anders verhalten wie die zur Theilung geneigten und fähigen Kerne. Dies trifft nun in hohem Masse zu. Lassen wir das Lysol, welches an schnell wachsenden Geweben die ruhenden Kerne so explosionsartig aufquellen macht, auf Kerne der Ganglienzellen oder der Spermien und reifen Eizellen einwirken, welche bekanntlich die Eigenschaften der Kerntheilung eingebüsst haben. Hier sind nämlich die Oedematinkügelchen sehr schwer oder gar nicht sichtbar zu machen und auf alle Fälle so wenig prononcirt, dass man sie nur noch mit Immersionslinsen sehen kann. Ich schliesse hieraus, dass bei diesen Zellarten ein mehr oder weniger hochgradiger Schwund des Oedematins in dem Kernsaft eingetreten ist.

Andererseits wissen wir, dass die kernhaltigen rothen Blutkörperchen der Amphibien im Beginne der Mitose physiologisch ihren Kern sehr stark vergrössern, aufquellen lassen, so dass der Kern, welcher ursprünglich verhältnissmässig klein ist, im Knäuelstadium, wie W. Flemming zuerst beobachtet hat, sein Volumen auf ein Vielfaches vergrössert. Der ruhende Kern der rothen Blutkörperchen der Salamanderlarve zeichnet sich nun bei Lysolbehandlung durch eine enorme Quellbarkeit aus wie sie bei anderen Kernen nicht vorzukommen scheint.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass wir im Lysol für manche histologische und cytologische Dinge ein wohl brauchbares Mittel der Darstellung haben, welches aber selbstverständlich, wie alle Macerationsmittel, mit dem nöthigen Verständniss anzuwenden ist.

Wenden wir unsere Aufmerksamkeit noch auf die Wirkung des Lysols auf Eiweisskörper ausserhalb der Zelle. Obschon ich aus mancherlei Gründen nicht der Ansicht bin, dass der Kernsaft einfach eine kochsalzhaltige Flüssigkeit ist, welche etwas Eiweiss gelöst enthält, so wollen wir einmal mit A. Fischer diese Annahme machen. Sogleich zeigt sich, dass A. Fischer's Behauptung, dass Eiweisskörper durch eine 10%ige wässerige Lysollösung nicht gefällt werden, durchaus falsch ist. Denn 10%ige Albumose (in Wasser gelöstes Peptonum siccum aus der Fabrik von Witte-Rostock) giebt einen weissen Niederschlag bei Zusatz von 10%iger Lysollösung, der erst im Ueberschuss sich wieder löst. Mikroskopisch erweist sich dieser Niederschlag aus Körnern sehr ungleicher Grösse bestehend, welche bei stärkerer Einwirkung des Lysols aufquellen und Neigung haben miteinander zu verschmelzen, wobei sie öfters gröbere oder feinere Netze bilden. Aehnliche Bilder erhält man bei Anwendung von 10%igem Lysol auf 10%ige Albumose, womit Hollundermark imbibirt wurde und welche durch 96%igen Alkohol gefällt war.

Es ist also wohl möglich, dass die oben erwähnte, die Quellung verzögernde Wirkung des Kresols im Lysol auf die primäre, eiweissfällende Wirkung desselben zurückzuführen ist. Bei Aufquellen der Albumosekügelchen zeigt sich öfters, nicht immer, namentlich aber in den grösseren Körnern eine Vakuolisirung, wie sie an den betreffenden Körnern im Zellkern nicht beobachtet wurde. Da die Verschmelzung der Oedematinkörner des Kernes ebenfalls nicht eintritt, so müssen im Kern wesentlich andere Verhältnisse vorliegen als wir sie bei den Albumosen soeben beschrieben haben. Nebenbei sei bemerkt, dass Wasser, wie Flemming zeigte, den Kern bis auf den Nukleolus vollständig homogen macht, ohne aber das Gerüstwerk zu zerstören. Wenn wir nun im Kern nach Einwirkung des 10%igen Lysols distinkte homogene und gleich grosse runde Kügelchen auftreten sehen, welche durch ihre Quellung erst deutlich werden und welche in der Grundsubstanz wie in einem Wabenwerk liegen und keinerlei Neigung zur Vereinigung haben, so habe ich doch wahrhaftig Grund, dieselben als präformirt anzusehen und nach meinen Präparaten zu sagen, der Kern besteht

aus einer Grundsubstanz in der Körner eingebettet liegen, welche ein hohes Quellungsvermögen haben. Wie dieselben weiter chemisch und physikalisch beschaffen sind, ob gallertig, ob flüssig, darüber kann ich natürlich nichts aussagen. Da wir nun andererseits wissen, dass in der Grundsubstanz des Kernes noch Chromatinkügelchen liegen, die sich mit Lysol behandelt auflösen, so resultirt, dass dieselben zwischen den Oedematingranula gelegen sein müssen. Ganz entsprechend meiner Anschauung fand FISCHEL den Bau des Zellenleibes auf Grund seiner schönen vitalen Färbungen.

Niemals sindAlkohol oder Osmiumsäure von mir zur Darstellung dieser Dinge, wie A. FISCHER schlankwegs behauptet, verwandt worden. Sondern ich habe mit Alkohol nur nachträglich die zusammengedrängte Wabenstruktur fixirt, welche ich vorher am Lysolpräparat gesehen hatte. Eine andere Frage ist die, ob die Lanthaningranula M. HEIDENHAIN's identisch oder etwas anderes sind wie meine Oedematingranula. Es ist das nicht so leicht zu entscheiden. Da aber die Lanthaninkörner im Knäuelstadium der Mitose verschwinden, meine Oedematingranula dagegen sich im Knäuelstadium, so lange die Kernmembran noch intakt ist, allerdings schon im gequollenen Zustand demonstriren lassen, so ist die Möglichkeit vorhanden, dass beide Dinge nicht identisch sind. Weitere Methoden werden hoffentlich in Zukunft hierüber den wünschenswerthen Aufschluss bringen.

Litteratur: F. REINKE (Anat. Anz., Bd. 8, 1893), derselbe (Ebenda), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 43, 1894), derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 9, 1900), SCHLOTER (Arch. mikr. Anat., Bd. 44, 1895), ZIMMERMANN (Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes, Jena 1896), A. FISCHER (Fixirung, Färbung und Bau des Protoplasmas, Jena 1899), LINCK (Arb. pathol.-anat. Abth. hyg. Inst., Posen 1901).

Reinke, Rostock.

M.

Macerationsmethoden dienen dazu, bestimmte Theile der Gewebe (vorwiegend die Intercellular- oder Grundsubstanzen) ganz oder theilweise aufzulösen, während sie andere Theile härten oder nur wenig angreifen, so dass sich beide von einander trennen oder durch Isolationsmethoden (siehe diese) von einander gelöst werden können. Manchen Macerationsflüssigkeiten können Farblösungen zum gleichzeitigen Färben zugesetzt werden, oder es kann eine Färbung nach der Maceration (und vor der Isolation) vorgenommen werden.

Die ersten systematischen und ausgedehnten Untersuchungen über die Einwirkung von chemischen Reagentien auf pflanzliche und thierische Gewebe und damit auch über die Verwerthbarkeit einzelner als Macerationsmittel sind von Mulder in Utrecht in Gemeinschaft mit Harting (für die Pflanzengewebe) und Donders (für die thierischen Gewebe) ausgeführt worden und sind veröffentlicht in Mulder, Versuch einer allgemeinen physiologischen Chemie (Deutsche Ausgabe, 2 Bände, Braunschweig 1844—1851), und Donders, Mikroskopische und mikrochemische Untersuchungen thierischer Gewebe (in: Holländische Beiträge zu den anatomischen und physiologischen Wissenschaften, Bd. 1, 1848, pag. 39 und 252). Donders untersuchte die Einwirkung von koncentrirter und verdünnter Kalilauge, Ammoniak, koncentrirter und verdünnter Essigsäure, koncentrirter Schwefelsäure und koncentrirter Salpetersäure auf Blut, Bindegewebe, Knorpel, Knochen, Muskelfasern, Nervengewebe, Haare und Horngewebe und nahm dabei theilweise auch Rücksicht auf die Temperatur. Einzelbeobachtungen waren in grösserer Zahl schon vorausgegangen, nicht aber systematische Untersuchungen.

M. Schultze[1]) wies zuerst darauf hin, dass gewisse Macerationsflüssigkeiten bessere Resultate geben, wenn ihnen kolloidale Lösungen, sei es solche, wie sie sich in den Körperflüssigkeiten vorgebildet finden, z. B. Serum, sei es künstlich hergestellte, wie Lösungen von Gummi arabicum, zugesetzt werden. Von späteren Forschern haben nur wenige diesen Gedanken aufgenommen und er ist in der Neuzeit fast ganz in Vergessenheit gerathen. Vielfach angewendet wird dagegen für die Herstellung von Lösungen die Anwendung von 0,5 oder 0,6%iger Kochsalzlösung oder von Meerwasser anstatt von destillirtem Wasser, entweder ausschliesslich oder nur theilweise. Nach Gage[2]) ist jede Flüssigkeit, welche ein bestimmtes Gewebe gut fixirt und härtet, auch ein gutes Macerationsmittel, wenn man sie etwa zehnmal verdünnt und nur kurze Zeit einwirken lässt; zur Verdünnung ist besser physiologische Kochsalzlösung (0,6%) als Wasser zu benutzen.

Bei der Verarbeitung der durch Schütteln isolirten Gewebstheile, wie auch anderer suspendirter körperlicher Elemente, z. B. Blutkörperchen, Spermatozoën, Infusorien u. s. w. kommt man häufig in die Lage, die Flüssigkeit von den zu Boden gesunkenen Elementen möglichst vollkommen absaugen zu müssen. Dazu empfiehlt A. Ewald[3]) einen von Mays erdachten Kapillarrohrheber, welcher an seinem kürzeren Schenkel nochmals hakenförmig nach oben umgebogen und kurz über der Biegung abgeschnitten ist; er gestattet, die Flüssigkeit fast bis zum letzten Tropfen abzuhebern, ohne etwas vom Bodensatz mitzunehmen. Man kann dann die verschiedenen Proceduren: Färben, Auswaschen u. s. w., in demselben Reagenzglas vornehmen. Pokrowski[4]) räth, die macerirten Elemente mit der Flüssigkeit in einem Reagenzglas zu centrifugiren und die weitere Behandlung: Färben, Auswaschen, Entwässern und Aufhellen in Bergamottöl und Xylol in demselben Glas vorzunehmen. Man soll stets gut durchschütteln. Zuletzt soll man den Inhalt in ein Schälchen mit verdünntem Kanadabalsam giessen und einen Tropfen mit der Pipette entnehmen.

Für allgemeinere Anwendung eignet sich vielleicht auch die Vorschrift von Hickson[5]), die isolirten Elemente mit einem Tropfen Eiweiss-Glycerinlösung auf den Objektträger zu bringen und diesen dann zur Koagulation des Eiweisses in Alkohol einzutauchen; die Präparate können dann in gewöhnlicher Weise gefärbt u. s. w. werden.

Auch empfiehlt es sich sicher, als Einschlussmittel Glycerinleim noch häufiger als bisher anstatt Glycerin anzuwenden.

Die folgende Aufstellung ist zumeist nach den Hauptbestandtheilen der macerirenden Flüssigkeiten angeordnet: erst anorganische, dann organische Bestandtheile. Streng durchführbar ist aber auch dieses Princip nicht.

1. Kadaveröse Veränderungen. Das Darmepithel eines eben getödteten Thieres stösst sich ab, wenn es nur wenige Minuten der Luft ausgesetzt wird; die Zellen schwimmen in der entstehenden milchigen Flüssigkeit (Ranvier[6]). An der Nasenschleimhaut gelingt nach M. Schultze[7]) die theilweise Isolirung der Riechzellen durch Zerzupfen schon dann, wenn sie frisch in Humor aqueus gebracht werden und 1—2 Stunden oder länger in ihm gelegen haben. Auch Waldeyer[8]) giebt an, dass sich die Flimmerzellen mit vortrefflicher Konservirung aller Theile leicht isoliren lassen, wenn man die Organe (z. B. Luftröhre) frisch in den Eisschrank bringt und nach 24 Stunden untersucht.

Werden Gewebe vollständig frisch, ohne Bakterien, in eine geschlossene Glasschale gebracht und der Eintritt der Fäulniss verhindert (Zufügung eines Stückes Kampher oder eines mit 10%iger Karbolsäurelösung getränkten Fliesspapieres), so bleiben sie mehrere Tage frisch, maceriren aber, so dass die Elemente leichter zu isoliren sind; von Ranvier[6]) besonders für Geschwülste empfohlen; auch von Carnoy[7]) angegeben.

2. *a)* Wasser, kalt oder mässig warm. Die macerirende Wirkung des kalten und mässig warmen Wassers ist vielfach angewandt worden, theilweise für sich allein, theilweise nach Vorbehandlung der Gewebe mit anderen Reagentien (z. B. von Osmiumsäure). Bei längerer Einwirkung des Wassers kann dabei der Eintritt von Fäulniss durch Zusatz von Antiseptica verhindert oder durch Anwendung fliessenden Wassers sehr verzögert werden.

So isolirte schon Schwann[9]) die Muskelfibrillen durch 8—21 Tage lange Maceration bei 1—8° R. in Wasser, welchem zur Verhinderung der Fäulniss etwas Sublimat zugesetzt war. Hoehl[10]) macerirte Lymphdrüsen längere Zeit in fliessendem Wasser, um sie dann weiter für die Darstellung des Retikulums zu verarbeiten.

R. Heidenhain[11]) macerirte feine Schnitte vom Gelenkknorpel des Frosches etwa 24 Stunden in destillirtem Wasser von 44—50° C., um die »Zellterritorien« des Knorpels darzustellen. Sudavewitsch[12]) behandelte elastisches Gewebe des Nackenbandes (mit oder ohne vorhergehende Alkoholeinwirkung) monatelang mit Wasser bei höherer Temperatur und isolirte so die periphere Schicht der Fasern als hohle Röhren. Philippson[13]) gelang es, die Epidermis der menschlichen Haut von der Cutis abzulösen dadurch, dass er die Hautstücke 2—3 Wochen lang im Wärmeschrank bei Körpertemperatur in Wasser (mit einigen Tropfen Chloroform versetzt) macerirte.

b) Wasser, warm oder kochend. Namentlich kochendes Wasser ist früher sehr viel angewandt worden, und zwar besonders, um die Muskelfasern leichter isoliren zu können. Die ersten Anwendungen für diese Zwecke hat es durch Muys 1741 und Home 1818 gefunden.[15]) Kölliker[14]) empfiehlt es ebenfalls für diesen Zweck.

Rollett[16]) wendet es an mit nachfolgendem Einlegen des Muskels für 24 Stunden in Glycerin, oder in der Form, dass er den Muskel in ein kleines Glasrohr bringt, dieses an beiden Enden zuschmilzt und im Sandbade etwa 10 Minuten lang auf 120—140° C erwärmt; dann zerbricht er das Glasrohr in warmem Wasser und isolirt die Muskelfasern durch Schütteln. Letzteres Verfahren wird namentlich auch von Kühne[17]) (siehe auch: Kühne bei: Schwefelsäure) sehr gelobt. Ranvier[6]) lobt besonders folgendes Verfahren: Man wirft einen lebenden Frosch in einen Liter auf 55° C. erwärmtes Wasser und lässt ihn in der allmählich erkaltenden Flüssigkeit 1/4 Stunde liegen. Dann kann man leicht die Haut abziehen, die Muskeln von ihren Sehnen ablösen und durch Schütteln oder Zerzupfen in ihre Fasern

zerlegen. FELIX [18]) empfiehlt für die Isolation von Muskelfasern menschlicher Embryonen eine ganze Extremität 10 Minuten lang in Wasser zu kochen und dann in Glycerin zu zerzupfen.

Kochendes Wasser, namentlich unter Druck, ist auch zur Untersuchung der Grundsubstanz des Knorpels und Knochenknorpels verwandt worden.

HOPPE [19]) stellte durch Kochen des entkalkten Knochens unter erhöhtem Druck (im PAPIN-schen Topf) die VIRCHOW'schen Knochenkörperchen dar und BROESIKE [20]) konnte durch Kochen in Wasser am entkalkten Knochen, beim Frosch schon nach wenigen Stunden, viel langsamer beim Menschen, die Grenzscheiden der Knochenkanälchen isoliren. MORAWITZ [21]) konnte aus dem Knorpel die Chondrinballen herauslösen und das Balkennetz isoliren dadurch, dass er die Knorpelschnitte mit etwas Wasser in enge Glasröhren brachte, diese an beiden Enden zuschmolz und im Wasser oder Oelbade kochte oder über 100° C. erhitzte. Längeres Erhitzen zerstörte auch das Balkennetz. [22])

Schliesslich wird Kochen auch zum Ablösen der Epidermis von der Cutis angewandt (BÖHM-DAVIDOFF [22]).

In der Botanik findet nach BEHRENS [23]) warmes bis kochendes Wasser (kurze Zeit bis mehrere Stunden) Anwendung zur Isolirung zarterer Pflanzentheile (Epidermis von Laubblättern, Früchten u. s. w.).

3. Kalilauge wurde zuerst von DONDERS [24]) in systematischer Weise für die Gewebsuntersuchungen benutzt (s. Einleitung zu: Maceration). Er wies zuerst auf den Unterschied in der Wirkung gesättigter und schwacher Lösungen hin, namentlich auch darauf, dass nach Maceration in gesättigter Lösung der Zusatz von Wasser die isolirten Theile stark zum Aufquellen bringt.

Man kann allgemein sagen: Starke Gemische lösen die Zwischensubstanz der Zellen auf und konserviren die übrigen Gewebselemente unter leichter Schrumpfung; schwache Lösungen zerstören die Zellen und sind nur für Epidermis, Nägel und Haare zu gebrauchen. Man benutze immer frische Lösungen, untersuche in der Macerationsflüssigkeit und setze kein Wasser zu. MOLESCHOTT [25]) benutzte 30—35%ige Kalilauge zur isolirten Darstellung der glatten Muskelfasern. Er empfahl besonders eine $32\frac{1}{2}$%ige Lösung, dargestellt durch Auflösen von 32.5 Gewichtstheilen Kali causticum in baculis in 67,5 Gewichtstheilen destillirten Wassers und liess die Muskelhäute bei Zimmertemperatur 20—30 Minuten lang maceriren. Die Kerne sind schlecht erhalten. WEISMANN [26]) fand im Anschluss daran eine 35%ige Lauge ebenso brauchbar, um Fibrillen des Bindegewebes, quergestreifte und Herzmuskelfasern, sowie Zellen der Horn- und Epidermoidalgebilde von einander zu trennen. Wenn man nach $\frac{1}{4}$stündiger Einwirkung auf den Muskel die Stelle zwischen Muskel und Sehne zerfasert, so lassen sich die Muskelfasern mit ihren Sehnenantheilen isoliren. M. SCHULTZE [1]) konnte sehr gute Isolationspräparate von Riech- und Flimmerzellen erhalten mit Lösungen, welche zwischen 28 und 40% Aetzkali enthielten. Er brachte Stücke ganz frischer Nasenschleimhaut in Uhrschälchen mit Lösungen verschiedener Koncentration und untersuchte sie nach $\frac{1}{2}$—3 Stunden (zuerst aus der stärksten Lösung, dann aus den schwächeren) auf ganz trockenem Objektträger.

EBERTH [27]) und AEBY [28]) konnten mit 35%iger Kalilauge die Endothelien der Blutkapillaren isoliren. FLEMMING [29]) erhielt für die Maceration der Fasern des Ciliarmuskels bessere Resultate, wenn er das Gewebe erst in Chlorpalladiumlösung (1 : 600—800) fixirte und dann etwas länger in 35%iger Kalilauge macerirte. THIN [30]) übergoss 15 Grm. gepulvertes trockenes Aetzkali mit 15 Ccm. destillirten Wassers, wobei die Temperatur bis auf 49° C steigt; während der langsamen Abkühlung, am besten bei 42—40° C., brachte er dann die Gewebe (Kornea vom Ochsen, Gelenkknorpel vom Frosch) für wenige Minuten hinein.

FELIX [31]) fand die koncentrirte Kalilauge für die Isolirung menschlicher Muskelfasern unzuverlässig. VAN GEHUCHTEN [32]) hat für die Maceration der Insektenmuskeln mit folgendem Verfahren sehr gute Erfolge erzielt. Man zerzupft den Muskel in einem Tropfen Serum, lässt ihn dann etwas antrocknen, bis die Fasern am Objektträger haften, fügt einen Tropfen einer 1%igen Kalilauge hinzu, bedeckt ihn mit einem Deckglas und stellt das Ganze in eine mit derselben Lösung gefüllte Schale; nach 10—15 Mi-

nuten saugt man destillirtes Wasser unter dem Deckglas hindurch, bis alles Alkali ausgewaschen ist, fixirt in Osmiumsäuredämpfen und konservirt in dem Gemisch von RIPART und PETIT. Sicherer ist folgendes Verfahren: Auf frische Muskeln lässt man absoluten Alkohol 12—15 Stunden (oder 50%igen Alkohol 36 Stunden) einwirken, wäscht dann in destillirtem Wasser aus, zerzupft und bringt einen Tropfen 1%iger Kalilauge für 5—15 Minuten darauf; dann Auswaschen in viel Wasser und Konserviren.

EWALD untersuchte die Veränderungen der elastischen Fasern nach verschieden langer Einwirkung eines Gemisches von 1 Theil Aetzkali und 2 Theilen Wasser. MALL [34]) benutzte Kali- (und Natron-)laugenlösungen verschiedenster Stärke bei verschiedenen Temperaturen und bei verschiedener Dauer der Einwirkung zur Untersuchung der Unterschiede zwischen elastischen, kollagenen und Retikulumfasern.

EBNER konnte bis zu 200 μ und darüber lange Herzmuskelfaserstücke dadurch isoliren, dass er frische Herzmuskelstückchen rasch zerzupfte, dann 35%ige Kalilauge (ohne Deckglas) zusetzte und nach einiger Zeit neuerdings vorsichtig mit Nadeln bearbeitete.

MORAWITZ [21]) löste durch 2—5%ige Kalilauge bei Zimmertemperatur in etwa acht Tagen, schneller bei 50°, an dünnen Rasirmesserschnitten vom Rippenknorpel älterer Individuen die »Chondrinballen« vollständig heraus, so dass nur das »Balkennetz« übrig bleibt.

Zur Maceration der Nägel verwendet man 32½—35—40%ige Kalilauge 3—5 Stunden lang, zu derjenigen der Haare 4,6%ige Lösung für 3—4 Tage (SCHIEFFERDECKER [36]) oder 33%ige Lösung unter Erwärmen oder tagelang bei gewöhnlicher Temperatur (BÖHM und OPPEL [37]). Die Maceration in 35%iger Lauge lässt sich auch dann vornehmen, wenn die Gewebe vorher in Alkohol, Chromsäure oder Chromsalzen, Pikrinsäure etc. gehärtet waren (GAGE [38]).

Brauchbare Dauerpräparate kann man nach folgenden Vorschriften bereiten: BORN [39]) bringt den (quergestreiften) Muskel (Säugethierembryonen) aus der Macerationsflüssigkeit vorsichtig in reines, koncentrirtes Glycerin, zertheilt ihn darin und setzt 2—3 Tropfen salzsäurehaltiges Glycerin und Jodtinktur solange zu, bis beim Umrühren die braune Jodfärbung des Glycerins nicht mehr verschwindet. Nach 24 Stunden wäscht man wiederholt mit Wasser aus, bis sich dieses kaum noch färbt. Kerne und Querstreifung sind und bleiben gut erhalten. Die Jodfärbung der Fasern verschwindet später wieder, kann aber durch eine solche in Glycerinkarmin ersetzt werden. Nach SCHIEFFERDECKER [36]) bringt man ein kleines Stück des macerirten Gewebes aus der Lauge direkt in Essigsäure von etwa 50% (oder etwas weniger) und bewegt es in dieser hin und her, damit die Neutralisirung möglichst schnell und gründlich erfolgt. Nach kurzer Zeit wäscht man es wiederholt in destillirtem Wasser aus, bringt es in Alaunkarmin und kann es in Glycerin oder FARRANT'scher Lösung zerzupfen und aufbewahren. GAGE [40, 38]) empfiehlt zur Verdrängung der Kalilauge ein Gemisch von 60 Grm. essigsauren Kalis und 40 Ccm. destillirten Wassers zu benutzen, dessen Wirkung durch Zusatz von 1% Essigsäure verstärkt werden kann. Die Präparate können hierin oder in Glycerin oder in Glycerinleim aufbewahrt werden. Zur Färbung wird das essigsaure Kali entfernt und halbgesättigte wässerige Alaunlösung für 24 Stunden oder länger einwirken gelassen. Dann wird in Wasser zerzupft, in Hämatoxylin, Alaunkarmin u. s. w. gefärbt. Das Alaunwasser ist für Herzmuskeln vom Frosch weniger gut als für die von Säugethieren. EWALD [3]) lobt für die Isolation von glatten Muskelfasern (Muskelschicht des Froschmagens in Stücke zerschnitten) und von Herzmuskelfasern (Stücke nicht mehr als 2 Mm. dick) das von SCHIEFFERDECKER (s. oben) empfohlene Verfahren unter Anwendung von MAYS' Kapillarheber (s. Einleitung zum Artikel Maceration). Nach der Essigsäure lässt er saure Hämatoxylinlösung oder DELAFIELD'sches Hämatoxylin ½—2 Stunden einwirken, füllt mit Wasser auf, lässt absetzen, hebert ab und wiederholt

dies, bis sich das Wasser nicht mehr färbt. Dann bringt er die Muskelelemente in 50%igen Alkohol, weiter in absoluten Alkohol, Nelkenöl und Kanadabalsam.

Für pflanzliche, namentlich dünnwandige Gewebe wird eine etwa 50% Aetzkali enthaltende Lösung gebraucht. Die Gewebe werden zweckmässig einige Minuten darin gekocht und dann in Wasser übertragen, in welchem sie sich leicht zerzupfen lassen (ZIMMERMANN[41]).

4. Natronlauge wird nach M. SCHULTZE[1]) für die Isolation von Riech- und Flimmerzellen am besten in einer Lösung gebraucht, welche 20—22% Aetznatron enthält, bringt aber keinen Vortheil vor der Kalilauge. Sie wird von vielen Autoren anscheinend als durchaus gleichwerthig mit der Kalilauge betrachtet, verhält sich jedoch nach BRÖSICKE[20]) gegen die Knochengrundsubstanz ganz anders als die Kalilauge. Die Grenzscheiden der Knochenkanälchen werden durch gesättigte (50%ige) Kalilauge früher als die übrige Grundsubstanz zerstört, während sie einer gesättigten oder starken Natronlauge länger als die übrige Grundsubstanz widerstehen und durch 24stündige Einwirkung von ihr isolirt werden können. Verdünnte Natronlauge wirkt dagegen genau wie Kalilauge.

5. Ammoniak wirkt nach DONDERS[24]) viel weniger kräftig als die Kalilauge. Es wird für thierische Gewebe hauptsächlich zur Isolirung der Elemente von Haaren und Nägeln in der Koncentration von 1 Vol. Ammoniak (spec. Gew. 0,96) auf 3 Vol. destillirten Wassers angewandt und muss monatelang einwirken; jahrelange Behandlung schadet nichts. WALDEYER[42, 43]) stellte durch längere Behandlung mit Ammoniak in den Rindenzellen der Haare feine Fibrillen dar. NATHUSIUS[44]) konnte diesen Zerfall in Fibrillen theilweise auch bei gröberer Schafwolle nach 15- und 18monatlicher Einwirkung der wässerigen Ammoniaklösung bestätigen. RICHTER[45]) findet Ammoniak in koncentrirter Lösung bei verschiedenen Temperaturen als geeignetes Macerationsmittel für pflanzliche Gewebe. Siedend angewandt macerirt es in 1 Minute Kartoffelknollenparenchym, in 5 Minuten das Endosperm von Ricinus, in 15—20 Minuten Stengelstückchen von Cucurbita Pepo. Bei 40° C isolirt er Holz von Taxus baccata in 4 Tagen, von Dyospyros Ebenum in 11 Tagen, und kalt angewandt macerirt er Kartoffelperiderm in 23 Tagen. In einer ausführlichen Tabelle giebt er ausserdem noch die Wirkung auf eine grosse Anzahl anderer Pflanzengewebe an.

6. *a)* Salpetersäure, koncentrirt oder nur schwach verdünnt mit Zusatz von etwas Glycerin benutzte FÖRSTER[46]) namentlich zur Darstellung von VIRCHOW's Knochenkörperchen. Er behandelte Knochenschliffe oder Knochensplitter 24 Stunden lang damit auf dem Objektträger und isolirte die Körperchen dann durch leichten Druck auf das Deckglas. NEUMANN[47]) isolirte mit starker, ja sogar kochender Salpetersäure (und Salzsäure) die Grenzscheiden der Knochenhöhlen. BRÖSICKE[20]) fand für denselben Zweck Einlegen in kalte koncentrirte Salpetersäure für 8 Tage oder Kochen in verdünnter Salpetersäure sehr geeignet.

W. KRAUSE[48]) wandte für quergestreifte Muskelfasern gewöhnliche, reine, koncentrirte Salpetersäure an. Einwirkung 4 Stunden lang, dann kommen die Muskeln 24 Stunden in Glycerin. Macht die Fasern wellig und nach W. FELIX[31]) leicht brüchig, isolirt aber gut. R. HEIDENHAIN[49]) fand in der gewöhnlichen, nicht rauchenden Salpetersäure, koncentrirt oder zu einem Drittel mit Wasser verdünnt, ein gutes Mittel, die Harnkanälchen auf möglichst lange Strecken mit erkennbar erhaltener Epithelstruktur (Salzsäure verwischt die besonderen Charaktere derselben zum grössten Theil) zu isoliren. Für die Dauer der Einwirkung lassen sich keine bestimmten Vorschriften machen; sie muss um so grösser sein, je fester das Nierengewebe ist. Dann kommen die Nierenstücke in ein Gemisch von 2 Theilen Glycerin und 1 Theil Wasser.

b) Salpetersäure, rauchende, 40%ig, wird von BÖHM und OPPEL[37]) für die Isolation der Harnkanälchen empfohlen. Einwirkung auf kleine frische Stücke 2—4 Stunden lang, dann wird mit destillirtem Wasser gewaschen und im Uhrschälchen, manchmal durch blosses Schütteln, isolirt. Nachfärben der gut ausgewaschenen Präparate in saurem Fuchsin, von dessen Lösung einige Tropfen dem Waschwasser zugesetzt werden. Untersuchen und Einschliessen in mit Wasser verdünntem Glycerin. Sehr gute Objekte für diesen Zweck sind die Nieren der Schildkröte und Maus.

c) Salpetersäure, 36%ig, wurde von KUHNT[50]) zur Isolation der Axencylinder benutzt. Er legte frische Nerven für 24—54 Stunden in das Gemisch und zerzupfte dann.

d) Salpetersäure, bis 30%ig, zur Maceration der Linse und leichten Isolirung der Linsenfasern (BÖHM und OPPEL[37]).

e) Salpetersäure, 20%ig, zuerst von REICHERT's Schüler PAULSEN[51]), dann auch von REICHERT selbst[52]) für die Isolirung glatter Muskelfasern

angegeben. Nach einer Einwirkung von 24—28 Stunden erhielt er beim Schütteln der Objekte mit Wasser die Fasern isolirt. — Man kann auch nur einige (2—3) Stunden maceriren, dann auswaschen und auf dem Objektträger in Wasser zerzupfen. Die Maceration ist in der Wärme viel schneller beendet. Wird auch für quergestreifte Muskelfasern verwendet. P. LANGERHANS [53]) erhielt durch kräftiges Schütteln sehr gute Isolationspräparate vom Nervensystem des Amphioxus, wenn er ein Thier 3 Tage in 20%ige Salpetersäure einlegte und dann wenigstens 24 Stunden auswässerte. G. SCHWALBE [54]) wendet dasselbe Verfahren zur Darstellung der Kopfnerven von Fröschen und Salamandern an; er legt die ganzen Thiere oder nur die Köpfe ein und empfiehlt, die Maceration 2 Tage lang bei 35° C. vorzunehmen. Dann vorsichtig schütteln. GAGE [40]) macerirt ganz frische Muskeln (eventuell ausgespannt) erst für 24 Stunden bei 18° C., dann für 1 Stunde bei 40—50° C (bei über 40° C oft kontrolliren!) und wäscht ½ - 24 Stunden in Wasser aus. Einige Muskelbündel werden dann auf dem Objektträger in Glycerin mit Zusatz von Pikrinsäure oder Pikrokarmin zerlegt; darauf wird das Glycerin abgesaugt, ein Tropfen Glycerinleim zugesetzt und in ihm die Fasern geordnet und eingeschlossen. Kernfärbung gelingt, wenn die ausgewaschenen Muskel für 12 Stunden in 4—5fach verdünnte KOCH'sche Tuberkelfärbeflüssigkeit, weiter in 20%igen Alkohol mit einem Tropfen Pikrokarmin, dann in 50%igen und schliesslich in 95%igen Alkohol übertragen werden. Die Fasern sind dann leicht durch Zerzupfen isolirbar. Uebertragen in Kollodium-Nelkenöl, Balsam. Die Farbe blasst manchmal ab. Er empfiehlt auch [38]), die Präparate mit Wasser auszuwaschen, dieses dann abzugiessen und durch eine halbgesättigte Alaunlösung zu ersetzen. Dann können sie beliebig lange aufbewahrt oder mit Hämatoxylin oder Karmin gefärbt werden. BRISTOL [55]) bringt zum Studium der makroskopischen Verhältnisse der Nerven bei Nephelis die Thiere frisch in 20%ige Salpetersäurelösung und lässt sie 24—36 Stunden darin, bis Haut und Muskeln leicht entfernt werden können. Dann werden sie ausgewaschen, in Boraxkarmin gefärbt und in Glycerin eingelegt. v. EBNER [35]) konnte durch längere Einwirkung von 20%iger Salpetersäure an den Annuli fibrosi des Säugethierherzens natürliche, zugespitzte Enden von Muskelfasern isoliren.

f) Salpetersäure, 10%ig, von SCHULTZ [56]) für die Isolation der glatten Muskeln von Wirbelthieren sehr empfohlen. Er legt die Gewebsstücke möglichst frisch für 24 Stunden in diese Lösung und bringt dann kleinere Abschnitte davon nach flüchtigem Abspülen mit destillirtem Wasser für 6—8 Tage in eine frisch bereitete Mischung von 1 Theil $^1/_{20}$%ige Osmiumsäure und 1 Theil $^1/_5$%ige Essigsäure (von HERTWIG f. Aktinien empfohlen), anfangs im Dunklen, dann im Hellen. Dann zerzupft er in Glycerinwasser und umzieht mit Lack; oder er isolirt durch Klopfen auf das Deckglas. Eventuell Färben mit wässeriger Eosinlösung.

Salpetersäure, schwach. METALNIKOFF [57]) giebt an, dass sich die Cuticula von Sipunculus bei Behandlung mit schwacher Salpetersäure leicht abhebt, sehr häufig mitsammt der Hypodermis und den in derselben eingeschlossenen Drüsen.

g) Salpetersäure, 3%ig, wird von MITROPHANOW [58]) benutzt, um die Hautdecke junger Axolotl-Embryonen abzuziehen. Er legt den Embryo erst für ¼ Stunde in diese Lösung und darauf für 1 Stunde in Viertel-Alkohol (1 Theil Alkohol auf 3 Theile Wasser). Die Hautdecke hebt sich dann theilweise ab; bringt man das Objekt auf 24 Stunden in stärkeren Alkohol, so löst sie sich fast auf dem ganzen Körper ab. Doppelfärbung mit koncentrirter wässeriger Lösung von Wasserblau und mit Safranin.

h) Salpetersäure, Glycerin und Wasser zu gleichen Theilen verwendete MARCACCI [59]) für die Isolation der glatten Muskeln der Brustwarze. HENDRICKSON [60]) rühmt diese Methode für die Darstellung der Muskulatur der Gallenblase und Gallengänge.

Salpetersäure, koncentrirt (1 Theil), Glycerin (1 Theil) und Wasser (3 Theile) benutzte Freud[61]) für die Isolation der Nerven höherer Wirbelthiere. Er macerirt 2—4 Tage lang und bringt die Präparate dann 1—2 Tage in destillirtes Wasser. Das Gemisch muss »je nach Bedürfniss mehr oder weniger Untersalpetersäure enthalten« und ist auch für Schleimdrüsen, Haare u. s. w. brauchbar.

Salpetersäure (1 Theil), Glycerin (2 Theile) und Wasser (2 Theile) wird empfohlen von I. B. Mac Callum.[62]) Er benutzt folgende Lösung für die Isolation der Herzmuskelfaserzüge an Embryonen und Erwachsenen. Die Herzen werden je nach Grösse für 8 Stunden bis 3 Tage in eine Mischung von 1 Theil gewöhnlicher Salpetersäure, 2 Theilen Glycerin und 2 Theilen Wasser gegeben. Dann kommen sie in eine Lösung von 5% Glycerin in Wasser und können einige Tage dariu liegen. Herzen, welche dann nicht sofort verarbeitet werden, werden in 5%ige Formollösung übertragen und darin aufgehoben; die eintretende Härtung erschwert die Isolirung nicht.

i) Salpetersäure (15 Volumtheile), Eisessig (15 Volumtheile), Glycerin (100 Volumtheile), absoluter Alkohol (100 Volumtheile), Wasser (100 Volumtheile) von Apathy[63]) für die Darstellung der Nerven von Hirudineen besonders empfohlen. Die Thiere werden gedehnt aufgespannt und für 24 Stunden in die Flüssigkeit gebracht, dann ohne auszuwaschen für 24 Stunden in 70%igen Alkohol übertragen, worin sie stark aufquellen und durchsichtig werden. Schliesslich kommen sie in 50%iges Glycerin, welches solange gewechselt werden muss, bis es nicht mehr sauer reagirt. Die feinsten Verästelungen des peripheren Nervensystems lassen sich dann im Zusammenhang ganz leicht herauspinseln.

k) Salpetersäure-chlorsaures Kali wurde zuerst von Franz Schulze, Prof. d. Chemie in Rostock, für die Isolation von Pflanzenzellen angegeben.[64]) Anfangs benutzte er Salpetersäure und phosphorsaures Kali, später (1856) Salpetersäure und chlorsaures Kali. Er empfahl auf 20 Gewichtstheile Salpetersäure von 1,160 spec. Gew. 3 Gewichtstheile chlorsaures Kali anzuwenden und es 14 Tage bei ungefähr 15° C einwirken zu lassen, aber nicht zu erhitzen. Für die Reindarstellung der Cellulose gab er (1860) an, 15 Gewichtstheile Salpetersäure von 1,1 spec. Gew. auf 1 Gewichtstheil chlorsaures Kali zu nehmen, das Gemisch mässig zu erwärmen, bis das Salz gelöst ist, und dann den zu macerirenden Pflanzentheil möglichst zerkleinert hineinzuwerfen. Die Einwirkung giebt sich durch reichliche Gasentwicklung (chlorige Säure etc.) zu erkennen. Dann wäscht man sorgfältig mit Wasser und kocht wiederholt mit Weingeist aus, so lange dieser noch etwas auflöst. Strassburger[41]) und Zimmermann[65]) geben für die Isolirung verholzter Pflanzentheile die Methode in folgender Form. Man übergiesst in einem weiten Reagenzglase einige Stücke chlorsaures Kali mit so viel Salpetersäure, dass die Stücke vollständig bedeckt sind, legt nicht zu dünne Längsschnitte des Holzes hinein und erwärmt über einer Flamme (wegen der sich entwickelnden Dämpfe am besten unter einem Abzuge), bis lebhafte Gasentwicklung eintritt. Dann lässt man das Reagens noch einige Minuten einwirken, im allgemeinen bis die Stücke völlig weiss geworden sind, und giesst hierauf das Ganze in eine grössere mit Wasser gefüllte Schale. Von dort werden die Stücke entweder auf den Objektträger übertragen und zerzupft oder in einem Reagenzglase mit Wasser geschüttelt.

Für thierische Objekte ist das Gemisch zuerst von J. Budge[66]) zur Isolirung der quergestreiften Muskelfasern angegeben worden. Er mischte die beiden Bestandtheile beliebig, liess die Mischung 12—24 Stunden einwirken und fand sie besonders für Froschmuskeln geeignet. Seinen Schüler Uechtritz liess er das Gemisch dann in verschiedener Zusammensetzung auch zur Untersuchung des Nerven- und Bindegewebes, der Hornhaut und der Nieren anwenden. v. Wittich[68]) empfahl für denselben Zweck die frischen (Frosch-) Muskeln in Zusammenhang mit den Knochen in einem Gemisch: Destillirtes Wasser 200 Ccm., Salpetersäure 1 Ccm., chlorsaures Kali 0,06 Grm. solange zu kochen, bis die Sehnen vollkommen durchsichtig sind, und dann zu zerzupfen.

W. Kühne[17]) gab dann folgende Vorschrift: Man bedeckt den Boden eines Becherglases mit Krystallen von chlorsaurem Kali, befeuchtet dieses schwach mit destillirtem Wasser und giesst etwa das vierfache Volumen reiner koncentrirter Salpetersäure hinzu. Die Mischung wird einmal umgerührt und der Muskel dann mit einem Glasstabe unter die Krystalle vergraben. Der Muskel zieht sich sofort stark zusammen und wird nach einiger Zeit bräunlich. Nach ½ Stunde wird er herausgenommen und im Reagenzglas mit Wasser heftig geschüttelt; zerfällt er nicht, so kommt er in die Mischung zurück und wird von 5 zu 5 Minuten erneut geschüttelt.

R. Heidenhain[11]) benutzte die von Wittich (s. oben) angegebene Mischung, um am Gelenkknorpel vom Frosch die »Zellterritorien« zur Darstellung zu bringen, brauchte aber

dazu nur $1^1/_2$ Monate. Den gleichen Erfolg in kürzerer Zeit (4 Tagen) erhielt er, wenn er in Salpetersäure von 1,16 spec. Gew. chlorsaures Kali im Ueberschuss eintrug und das Gemisch mit dem gleichen Volumen destillirten Wassers verdünnte. WALDEYER[69]) benutzte das Gemisch zum Isoliren von Ganglienzellen mit Ausläufern bei Wirbellosen und bei Vertebraten und von Nervenfasern bei Vertebraten und findet, dass es dabei auf ein bestimmtes Verhältniss zwischen der Salpetersäure und dem chlorsauren Kali gar nicht ankommt, doch muss die Mischung öfters erneuert werden. Batrachier- (besonders günstig) und Fischnervenstämme bleiben bei 12—15° C gewöhnlich 18—25 Stunden, im Sommer 5—8 Stunden in der Mischung, die Nervenstämme der höheren Wirbelthiere wenigstens 24 Stunden, die peripherischen Ganglien bis zu 24 Stunden. Da Mark und SCHWANN'sche Scheide gern stellenweise abbröckeln, erhält man so auch theilweise die Axeucylinder nackt.

v. EBNER[70]) isolirt die glatten Muskelfasern der Aortenwand folgendermassen: Er bringt auf den Boden eines Glasgefässes gepulvertes chlorsaures Kali, legt ein möglichst frisches Stück der Aorta darauf und bedeckt es wieder mit einer Schicht des Salzes. Dann giesst er das 5—6fache Volumen Salpetersäure von nahezu 20% (spec. Gew. 1,14) vorsichtig an der Wand des Glases herab und lässt die Mischung an einem kühlen, vor der Sonne geschützten Ort gewöhnlich 10—14 Tage stehen. Darauf wird in viel dest. Wasser ausgewaschen und ausgeschüttelt oder auf dem Objektträger abgespalten. Bei Uebertragung in Alkohol schrumpfen die Zellen etwas. Kürzere Einwirkung des Gemisches benutzte er für das Studium des Aufbaues der elastischen Fasern.

FUBINI[71]) wendet ein Gemisch von 1 Gewichtstheil chlorsauren Kali und 3 Gewichtstheilen Salpetersäure zur Isolirung der Linsenfasern an. Für frische Linsen (Mensch, Säugethiere, Frosch) genügen 1—2 Minuten. Man wäscht sie dann mehrmals mit destillirtem Wasser aus und zerzupft auf dem Objektträger. Aufheben in MOLESCHOTT's schwachem Essigsäure-Alkohol-Gemisch oder in $^1/_2$—$1^0/_0$iger Pikrinsäurelösung.

W. FELIX[31]) brachte zur Isolation quergestreifter Muskelfasern die Muskeln zunächst für $^1/_2$—2 Stunden in die BUDGE'sche Salpetersäuremischung und dann bis zu 8 Stunden und mehr in reine koncentrirte Salpetersäure. Um die Fasern in ihrer natürlichen Länge zu erhalten, schlug er folgendes Verfahren ein: Er liess den Muskel im Zusammenhang mit seiner Sehne oder einem Theile des Knochens, an dem er entsprang, und befestigte an den Enden sehr starke Fäden. Dann wurde er feucht in Krystallen von chlorsaurem Kali gewälzt und so in eine Glasröhre gebracht, dass die Fäden herausragen. Der eine Faden wird durch einen eingesetzten Gummistopfen, der andere beliebig befestigt, aber nicht zu stark angespannt. Dann wird wie oben angegeben verfahren und, immer unter Spannung, mehrere Stunden in fliessendem Wasser ausgewaschen. STÖHR[72]) giebt folgende Vorschrift: Man bringt in 20 Ccm. reiner Salpetersäure (spec. Gew. 1,18) soviel chlorsaures Kali (ca. 5 Grm.), dass ein Theil ungelöst bleibt. Nach 1—6 Stunden (manchmal später) wird das Objekt in 20 Ccm. destillirtes Wasser für eine Stunde eingelegt (kann 8 Tage darin bleiben) und schliesslich in einem Tropfen verdünnten Glycerins (5 Ccm. Glycerin : 25 Ccm. destillirten Wassers) zerzupft. Wenn die Säure gut ausgewaschen ist, lassen sich die Präparate konserviren und auch unter dem Deckglase färben.

7. *a)* Salzsäure, koncentrirt. VIRCHOW[73]) isolirte seine »Knochenkörperchen« (d. h. die Knochenhöhlen und -zellen mit den Grenzscheiden) dadurch, dass er dünne Knochenplättchen mit oder ohne vorheriges Kochen in koncentrirter Salzsäure 4—6—12 Stunden macerirte und auf dem Objektträger zerschüttelte.

SCHWEIGGER-SEIDEL[74]) verwendet für die Isolirung der Harnkanälchen eine reine Salzsäure von 1,12 spec. Gew. und lässt sie 15—20 Stunden (in der Wärme weniger lange) auf feine Schnitte oder auf grössere Stücke einer nicht zu frischen Niere (24 Stunden nach dem Tode) einwirken. Kleine Thiere eignen sich besser als grosse, junge besser als alte; besonders zu empfehlen sind: Maus, Fledermaus, Maulwurf, Meerschwein, sehr ungünstig: Mensch. Nach beendigter Maceration kann man in Wasser gut auswaschen und aufheben; dadurch wird mitunter die Isolirbarkeit begünstigt. Schütteln

und Zerzupfen sind zu vermeiden. Man fischt einzelne Abtheilungen mit einem breiten Glasstäbchen heraus und sucht sie durch wiederholtes Eintauchen zu isoliren. Dann werden sie auf den Objektträger übertragen und in Glycerin untersucht. Eine Färbung (mit Karmin) ist nur schwach nothwendig, da die Präparate selbst in Glycerin bedeutend nachdunkeln. SCHIEFFERDECKER[36]) empfiehlt für die Isolirung der Nierenkanälchen ebenfals die reine Salzsäure der Pharmakopoe. Bei Embryonen und jungen Thieren ganze Nieren oder Stücke davon für 10, bei älteren Thieren kleine Stücke für 20 bis 24 Stunden; dann in destillirtes Wasser für 10—24 Stunden; dann zerdrücken oder zerschütteln. Färbung mit Vesuvin. Aufbewahren in Glycerin. STÖHR[72]) empfiehlt für Drüsenkanälchen überhaupt kleine Stücke (von ca. 1 Cm. Seitenlänge) in 10 Ccm. reine Salzsäure. Nach 10—20 Stunden werden die Stückchen in ca. 30 Ccm. destillirtes Wasser gebracht, welches innerhalb 24 Stunden mehrmals gewechselt werden muss. Die Isolation gelingt leicht durch vorsichtiges Ausbreiten des Stückchens mit Nadeln in verdünntem Glycerin.

MALL[34]) untersuchte die Einwirkung der Salzsäure in den verschiedensten Koncentrationsgraden und bei verschiedenen Temperaturen auf das elastische, kollagene und retikulirte Gewebe.

b) Salzsäure, verdünnt. REICHERT[52]) benutzte eine 20%ige Salzsäure für die Isolirung glatter Muskelfasern und liess sie 24—28 Stunden einwirken. Dann schütteln in Wasser. ROLLETT[75]) stellte durch Maceration des Bindegewebes in 0,1%iger Säure die elastischen Fasern und Bindegewebszellen dar. HENLE[76]) macerirte Nieren zur Isolirung der Harnkanälchen mit einer »eben nicht mehr rauchenden Salzsäure« 24 Stunden lang und spülte sie dann mit destillirtem Wasser ab. AEBY[77]) macerirte in der gleichen Weise (wie HENLE) quergestreifte Muskeln und fand die Fasern gut isolirt und erhalten. KÖLLIKER[78]) lässt für die Niere rauchende Salzsäure, welche mit 2—3 Theilen Wasser verdünnt ist, 12—24 Stunden einwirken, verdünnt dann die Flüssigkeit mit der gleichen Menge Wasser und schüttelt. Die Harnkanälchen isoliren sich leicht und das Epithel ist ziemlich gut erhalten. v. MIHALKOVICS[79]) liess frische Hodenstücke in einer starken Salzsäure (2 Vol. Säure auf 1 Vol. Wasser) 1—2 Tage bei 30° C maceriren und brachte sie dann in Wasser, bis die Windungen der Kanälchen anfangen zu zerfallen. Die Hodenkanälchen liessen sich dann unter Wasser mit Nadeln auf sehr lange Strecken gut isoliren, besonders wenn ihre Wände stärker sind, wie beim Menschen, während die dünnwandigen Kanälchen kleiner Säuger leicht zerreissen. KÖNIGSTEIN[80]) isolirte die Zellen und Nerven der Hornhaut vom Frosch und Mensch dadurch, dass er die Hornhaut zuerst mit Goldchlorid imprägnirte und dann 24 Stunden lang in ein Gemisch von gleichen Theilen der »käuflichen Salzsäure« und Wasser nebst einigen Tropfen Glycerin macerirte. MORIGGIA[81]) fand die 0,5—1%ige Salzsäure besonders geeignet zur Isolirung der Linsenfasern. (Auch HENLE[82]) erwähnt schon diese Wirkungsweise der Salzsäure auf die Linse, giebt aber keinen Koncentrationsgrad an.) FREUD[83]) benutzte für die Isolation der Spinalganglien von Petromyzon fast dasselbe Verfahren wie KÖNIGSTEIN. Er legte Schwänze von Petromyzon für $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$ Stunden in $\frac{1}{4}$%ige Goldchloridlösung, dann in die PRITCHARD'sche Reduktionsflüssigkeit am Lichte für 24 Stunden (oder zweimal 24 Stunden), macerirte sie 24 Stunden lang in einem Gemisch von 50 Vol. rauchender Salzsäure, 35 Vol. destillirten Wassers und 15 Vol. Glycerin, übertrug sie 24 Stunden in reines Glycerin und zerfaserte sie vorsichtig unter der Lupe. KRAUS[84]) studirte den feineren Bau der MEISSNER'schen Tastkörperchen an Schnitten, welche erst vergoldet, dann in Glycerin gelegt und nachher in Salzsäure macerirt waren.

VAN GEHUCHTEN[32]) bringt zum Studium der Insektenmuskelfasern einen dem lebenden Thier abgeschnittenen Fuss der Länge nach aufgeschlitzt in ein Gefäss mit 0,4%iger Salzsäure, zerfasert ihn sofort grob und lässt ihn 3—4 Tage oder länger bei 37—42° C darin liegen. Dann wäscht er in destillirtem Wasser aus, fixirt mit Osmiumsäuredämpfen und legt in einen Tropfen des Gemisches von RIPART und PETIT ein. Ausserdem wendet er unter der Bezeichung: Methode von DANILEWSKY[85]) folgendes Verfahren an. Er bringt einen Insektenmuskel leicht zerzupft in ein Glas mit 1%iger Salzsäure, rührt von Zeit zu Zeit um, saugt die Flüssigkeit nach 6—10 Stunden ab und ersetzt sie durch destillirtes Wasser. So wäscht er 4—5mal aus, bis keine Spur von Säure mehr nachweisbar ist. Dann verfährt er wie oben.

MÖRNER[86]) macerirt feine, durch Schaben mit dem Messer erhaltene Späne vom Trachealknorpel eines ausgewachsenen Thieres nach vorläufiger

kurzer Extraktion mit destillirtem Wasser mit einer 0,1—0,2%igen Salzsäurelösung bei 40° C, wäscht dann in Wasser von 40° C aus und bringt sie in 0,05 bis 0,1%ige Kalilauge. Er löst so das Chondromukoid heraus und isolirt das Albumoid als zierliches Netzwerk. MORAWITZ[21]) erhielt mit der Methode von MÖRNER die gleichen Resultate; ausserdem konnte er die Chondrinballen auch durch 24stündige Einwirkung einer 25%igen Salzsäure bei 40° C herauslösen, doch zeigte dann das zurückgebliebene Balkennetz vom Rande her Spuren der Auflösung.

Ueber SAPPEY's Anwendung der Salzsäure zu Macerationsmethoden siehe bei: Schwefelsäure. RENAUT[87]) wendet 0,1%ige Salzsäure oder 1%ige Essigsäure zur Darstellung des Sarkolemms bei weissen Kaninchenmuskeln und bei Froschmuskeln an.

c) Salzsäure-Alkohol wurde von C. LUDWIG und ZAWARYKIN[88]) zur Isolation der Harnkanälchen benutzt. Sie kochten kleine Stücke der frischen Niere 4—6 Stunden lang in 90%igem Alkohol, welchem 0,5—0,75% gereinigte, möglichst stark rauchende Salzsäure zugesetzt war, auf dem Wasserbade mit Benutzung eines Rückflusskühlers, wuschen sie dann wiederholt mit Wasser aus, bis der Alkoholgeruch verschwunden war und liessen sie dann noch mehrere Tage in Wasser stehen. Durch sanfte Bewegungen liessen sich darauf sehr lange Stücke von Harnkanälchen isoliren. Sie konnten auch in Alkohol gehärtete Nieren verwenden, wenn sie vor der Maceration wieder in Wasser aufgequollen waren. Die Maceration von Nieren, deren Harnkanälchen vorher mit Berlinerblau-Lösung injicirt waren, gewährte gewisse Vortheile. TOMSA[89]) benutzte dieselbe Methode für die Isolation der Nerven in der Haut der menschlichen Eichel, nur fand er es für diesen Zweck geeigneter, 0,1%ige Salzsäure (in 90%igen Alkohol) zu nehmen und 24—48 Stunden zu kochen. Die Maceration musste dann längere Zeit in Wasser fortgesetzt werden. Alkoholpräparate waren für diese Methode im allgemeinen nicht brauchbar.

Für die Isolation nicht verholzter und nicht verkorkter pflanzlicher Gewebe ist das von MANGIN[90]) angegebene Verfahren geeignet. Man legt dünne Schnitte für 24 Stunden in ein Gemisch von 1 Theil Salzsäure und 4—5 Theilen Alkohol, wäscht sie dann mit Wasser aus und behandelt sie darauf kurze Zeit mit einem Alkali, und zwar entweder mit der Lösung eines Kali- oder Natronsalzes von alkalischer Reaktion (Karbonat, Phosphat, Oleat, Silikat u. s. w.) oder mit einer schwachen Ammoniaklösung oder mit der Lösung des Ammoniumsalzes einer organischen Säure (Oxalsäure, Citronensäure u. s. w.). Sobald die Gewebe vollständig von dieser Lösung durchdrungen sind, genügt ein schwaches Schütteln, um die Elemente vollständig zu isoliren.

8. *a)* Schwefelsäure, koncentrirte, reine, englische (Spec. Gew. 1,84). DONDERS[24]) hat besonders genau ihre Einwirkung auf verschiedene thierische Gewebe untersucht. Er bestätigte auch die schon von anderen (MEYER, VALENTIN) gemachten Angaben über ihre macerirende Wirkung auf verhornte Gebilde (verhornte Epidermis, Haare, Nägel).

In späterer Zeit beschleunigte man die Isolirung der Bestandtheile dieser Gebilde durch Erwärmen.

b) Schwefelsäure, verdünnt, wird von W. KÜHNE[17]) zur Maceration quergestreifter Muskelfasern empfohlen. Der Muskel wird für 24 Stunden in ein Gemisch, welches im Liter Wasser 0,1 Grm. koncentrirte Schwefelsäure (s. oben) enthält und welches erneut wird, sobald der Säuregrad merklich abnimmt. Dann wird die Säure sorgfältig mit destillirtem Wasser ausgewaschen und der Muskel in einem grösseren Glas mit destillirtem Wasser auf 35—40° C erwärmt. Durch starkes Schütteln mit Wasser in einem Reagenzglase zerfällt darauf der Muskel in seine Fasern.

M. SCHULTZE[1]) fand, dass sich Riechzellen und Stäbchen der Retina vortrefflich konserviren und isoliren lassen in einer Lösung, welche 3—4 Tropfen koncentrirter Schwefelsäure (s. oben) auf 30 Grm. Wasser enthält (0,6—0,7%ige Lösung); manchmal kann man auch auf 1 Tropfen herab und bis auf 10 Tropfen hinaufsteigen. Kaltblütige Thiere vertragen stärkere Lösungen als warmblütige; bei den Vögeln dürfen nur ganz schwache Lösungen ($^1/_4$—$^1/_2$ Tropfen auf 30 Grm. Wasser) genommen werden. Die einzulegenden Stücke dürfen nicht zu klein sein im Verhältniss zur Flüssigkeitsmenge. Die Untersuchung hat schon nach

einigen Stunden zu beginnen. Zur vollständigen Isolirung kann man noch eine mehrstündige Behandlung mit Wasser von 35—40° C eintreten lassen, durch welche das Bindegewebe zuletzt fast vollständig gelöst wird. SCHLÜTER[19]) macerirte aus Speicheldrüsen durch Kochen in 0,1%iger Schwefelsäure die zu den Drüsenaeini verlaufenden marklosen Fasern. ODENIUS[94]) macerirte mit einer 0,6—0,8%igen Lösung Tasthaare 8—14 Tage lang zur Darstellung der Nervenenden in ihnen. BROESICKE[20]) erwähnt, dass sich mit verdünnter Schwefelsäure schon in der Kälte die Grenzscheiden der Knochenkanälchen darstellen lassen. PATTEN[92]) macerirte die Augen von Mollusken und Arthropoden bis zu 20 Tagen oder länger mit einem Gemisch von 5 Tropfen Schwefelsäure auf 30 Grm. Seewasser und erhielt damit die besten Resultate für die Nervenendigungen in den Retinophoren und für einige andere Verhältnisse. SAPPEY[93]) empfiehlt als Macerationsflüssigkeit ein Gemisch von 9 Theilen 20%iger Salz- oder Schwefelsäure und 1 Theil Essigsäure; er legt die Gewebe erst 24—30 Stunden in diese Lösung und lässt sie dann aufkochen in einer Mischung von 9 Theilen 3- oder 5%iger Schwefelsäure und 1 Theil Essigsäure. Die Methode ist vielfach variabel und fast für alle Gewebe anwendbar.

c) Schwefelsäure und Glycerin hat A. FISCHER[95]) zur Isolation von einzelnen Zellen aus weichen Pflanzentheilen empfohlen. Er bringt die Schnitte auf den Objektträger in einen Tropfen Glycerin und bedeckt mit einem Deckglas. Dann wird am Rande des Deckglases ein Tropfen Schwefelsäure zugesetzt und höchstens eine Minute lang bis zum Sieden erhitzt. Durch Druck auf das Deckglas gelingt dann leicht die vollständige Isolirung.

9. *a)* Schwefelige Säure wurde zuerst von KÜHNE[96]) zur Isolation quergestreifter Muskelfasern verwandt. Er brachte die Muskeln 24 Stunden lang in äusserst verdünnte schwefelige Säure, erwärmte sie dann mehrere Stunden lang auf 40° C und schüttelte sie dann heftig mit Wasser im Reagenzglase. SANDMANN[97]) zieht folgendes Verfahren vor: Muskeln oder der Länge nach herausgeschnittene Streifen werden für 1—8 Tage oder noch länger in ein gut verkorktes Reagenzglas mit schwefeliger Säure in der gewöhnlichen Koncentration des Handels (d. h. ca. 5% SO_2 enthaltend. SPALTEHOLZ) gebracht, dann tüchtig in destillirtem Wasser ausgewaschen und in einem Reagenzglas mit destillirtem Wasser 3—4 mal gekocht, so dass das Wasser dazwischen erkaltet oder durch kaltes ersetzt wird. Dann wird durch Schütteln isolirt. Die so isolirten Fasern lassen sich leicht und rasch vergolden. Man übergiesst sie in einem Reagenzglas für wenige Minuten (bis zur gelblichen Färbung) mit Wasser, welchem für je 10 Ccm. 1—3 Tropfen einer 1%igen wässerigen Goldchloridlösung zugesetzt werden, wäscht dann mit destillirtem Wasser aus und erhitzt dann in Wasser, welchem ein Tropfen Essigsäure zugesetzt werden kann, bis zum Sieden. Untersuchen und Einbetten in Glycerin und Wasser zu gleichen Theilen, wozu ein Tropfen Essigsäure gesetzt wird. Die Nervenendigungen bleiben sehr gut erhalten.

b) Schwefelige Säure und Rohrzuckerlösung ist von KLEBS[98]) benutzt worden für Entfernung des Epithels und Aufhellung des Bindegewebes ohne Beschädigung der Nerven- und Muskelfasern beim Studium der Nervenendigung an glatten Muskelfasern. Er benutzte eine 5%ige Rohrzuckerlösung und setzte zu je 1 Ccm. derselben 1 Tropfen einer ziemlich gesättigten schwefeligen Säure. In diesem Gemisch liess er die Harnblase des Frosches bis die Epithelien beginnen sich loszulösen. Dann wird sie in eine reichliche Menge einer 30%igen Lösung von phosphorsaurem Natron übertragen und das Epithel durch Schütteln (nicht durch Pinseln!) entfernt.

10. Arsenige Säure isolirt nach THIEM[99]) in kaltgesättigter Lösung nach einigen Tagen ausgezeichnet die Fibrillen der quergestreiften Muskelfasern, sowie die elastischen Fasern. GOLGI[100]) verwendet eine 1%ige Lösung, welcher ungefähr ein Viertel ihres Volumens Alkohol zugefügt wird, zur Isolation der Harnkanälchen. Er macerirt embryonale und postembryonale Nieren von Mensch und anderen Wirbelthieren 4—10 Tage darin und findet die Maceration leichter und das Epithel besser erhalten als mit anderen Methoden.

11. Chromsäure wurde zuerst von HANNOVER[101]) in die histologische Technik eingeführt und von ihm in verdünnter Lösung angewandt. Weiteres über die Geschichte der ersten Anwendung siehe bei WEIGERT.[102])

a) Koncentrirte wässerige Lösung wird nur zur Isolirung pflanzlicher Zellen aus verholztem Gewebe gebraucht. Man lässt nicht zu dicke Schnitte ½—5 Minuten lang in der Lösung und wäscht dann mit viel Wasser aus. Das Verfahren steht dem SCHULZE'schen (siehe Salpetersäure-chlorsaures Kali) bedeutend nach (STRASSBURGER[65]).

b) Verdünnte wässerige Lösung. HANNOVER[101]) benutzte gewöhnlich Mischungen von 1 Theil Säure auf 16—20 Theile Wasser und untersuchte nach 2—4 Monaten. Er fand (pag. 551), dass die Muskelfasern dann leicht in ihre Fibrillen zerfallen, dass ferner (pag. 550) sich die Fasern der Linse leichter isoliren lassen und (pag. 553) dass die Gehirnzellen bei längerer Einwirkung noch erhalten sind, wenn die Nervenfasern bereits zerfielen. M. SCHULTZE[103 u. 1]) benutzte sie dann zur Isolation der Zellen der Riechschleimhaut und der Netzhaut und prüfte dabei genau die Wirkungsweise verschieden starker Lösungen. Es ist stets reine. von Schwefelsäure möglichst freie Chromsäure zu benutzen, welche, da sie begierig Wasser anzieht, vor dem Gebrauch bei 100° C (oder im Exsiccator über Schwefelsäure) getrocknet werden muss. Die Isolation der Stützzellen der Riechschleimhaut[103]) (pag. 505) ist fast durch jede beliebig starke Lösung von Chromsäure (schwankend zwischen 0,03, 0,8 und mehr Gramm auf 100 Wasser) möglich; diejenige der Riechzellen[103]) (pag. 508) ist aber an die Benutzung von ganz bestimmten Koncentrationsgraden gebunden, jedoch so, dass die Lösung je nach dem Thier und nach der Zeit zwischen dem Tod und dem Einlegen verschieden stark gewählt werden muss; je später das Gewebe eingelegt wird, um so stärker muss die Lösung sein. Die Beimischung von löslichen organischen Stoffen, wie Blut, Schleim, zur Macerationsflüssigkeit, kann namentlich bei warmblütigen Thieren günstig für die Maceration wirken, wenn gleichzeitig die Chromsäurelösung etwas koncentrirter gewählt wird; so hat M. SCHULTZE[1]) (pag. 85) von dem Zusatz wässeriger Lösungen von Gummi arabicum gute Erfolge gesehen. Die günstigsten Koncentrationen für die Isolirung der Riechzellen waren für den Frosch 0,03—0,04 Grm.: 100 Wasser[103]) (pag. 508), für beschuppte Amphibien und Warmblüter 0,01—0,025 Grm. : 100 Wasser[103]) (pag. 509), für den Menschen, wenn sie erst 12—24 Stunden nach dem Tode zur Untersuchung gelangen, 0,05 Grm. : 100 Wasser[1]) (pag. 84). Die Einwirkungsdauer soll 1—3 Tage dauern, kann jedoch bei gelungener Maceration verlängert werden[1]) (pag. 86). Sehr wichtig ist das Verhältniss zwischen dem Volumen des Präparates und jenem der Flüssigkeit; im allgemeinen ist es nicht ungünstig, das Präparat verhältnissmässig gross zu wählen. (RANVIER[6]) empfiehlt ungefähr 10 Ccm. Chromsäurelösung für ein Stückchen von ungefähr 5 Mm. Breite zu nehmen.) Bei Warmblütern ist die Sicherheit der Methode mangelhaft. An der Retina sind ähnliche Unterschiede gegen verschieden starke Lösungen der Chromsäure, wie an der Riechschleimhaut, zwischen Nervenfasern und Stützfasern vorhanden[103]) (pag. 512); die Retinastäbchen werden dagegen schlecht konservirt[1]) (pag. 90).

BUCHHOLZ[104]) verwendet die Chromsäure zur Isolation der Ganglienzellen bei Süsswassermolusken. Schnecken werden 1 Tag oder länger (vor dem Vertrocknen geschützt) liegen gelassen oder in äusserst verdünnten Alkohol oder in Chromsäure von höchstens 0,01% gebracht. Dann werden die Schlundringe heraus präparirt und in 0,02—0,05%iger Chromsäurelösung, in der schwächeren mehrere, in der stärkeren höchstens ½ Stunde liegen gelassen. Darauf werden sie in einer indifferenten Flüssigkeit (Humor aqueus, Zuckerlösung oder dergl.), die mit Karmin gefärbt werden kann, so lange liegen gelassen, bis sich die Ganglienknoten als zusammenhängende, elastische Klumpen unverletzt herausheben lassen, selbst aber der Zerzupfung einen gewissen Widerstand entgegensetzen; in diesem Falle werden die Präparate gut. Ueber WALDEYER's (1863) Anwendung der Chromsäure für die Isolation peripherer Nerven von Wirbellosen siehe bei: Sublimat. PFLÜGER[105]) macerirte zur Isolation von Speicheldrüsenzellen mit anhängenden Nervenfäden die Drüsen 24 Stunden lang in 0,04%iger Chromsäurelösung entweder unmittelbar nach dem Tode oder nachdem er sie vorher 5 Tage in Jodserum bei Zimmertemperatur eingelegt hatte. DEITERS[106]) hat für die Isolirung der Ganglienzellen ebenfalls theilweise dünne Chromsäurelösungen (nicht über 0,025%) allein, theilweise auch in Verbindung mit chromsaurem Kali (siehe dieses) gebraucht. ARNOLD[107]) isolirt sympathische Ganglienzellen mit Spiralfaser von Rana temporaria, indem er die Ganglien 4—5 Minuten in eine 0,2—0,3%ige Lösung einer Essigsäure von 1,07 specifischem Gewicht und dann 12—24 Stunden, höchstens 36 Stunden in eine 0,01—0,02%ige Chromsäurelösung bringt. Die Präparate dunkeln nach. Man kann in Pikrokarmin oder in 0,1%iger Goldchlorid-

lösung mit Reduktion in angesäuertem Wasser bei Tageslicht nachfärben und erhält dann sehr schöne Bilder nach RAWITZ.[111]) Ganglienzellen mit Ausläufern erhielt er ebensogut wie mit der von DEITERS angewandten Methode (siehe doppelt-chromsaures Kali), wenn er[108]) Schnitte von gefrorenen Stücken einige Stunden in 0,01%iger Chromsäure und 0,01—0,05%iges chromsaures Kali einlegte. FRANKENHÄUSER[109]) erhielt durch Zerzupfen sehr gute Präparate von den glatten Muskelfasern des schwangeren Uterus von Mensch, Kaninchen und Schaf, wenn er 0,2—1%ige Chromsäurelösung 3—18 Stunden oder länger, je nach Schnittdicke und Stärke der Lösung, einwirken liess. Präparate, die vorher in Alkohol gelegen hatten, lassen sich leichter zerlegen. SCHWALBE[110]) benutzte ebenfalls namentlich Chromsäurelösungen, aber nur 0,02%ige, zum Studium der glatten Muskelfasern. Er fand dafür die Harnblase des Hundes besonders geeignet und macerirte sie 1—2 Tage. Für glatte Muskelfasern verschiedener Thiere muss man verschieden starke Lösungen nehmen. BOLL[112]) macerirte frisch dem Thiere entnommene Zahnpulpen ungefähr eine Stunde in ca. 0,03%iger Lösung und machte dann durch Zerzupfen die feinsten Nervenverästelungen sichtbar. (Ueber seine Zusammenstellung: erst Jodserum, dann Chromsäure siehe bei: Jodserum.) GOTTSTEIN[113]) fand Chromsäurelösungen von 0,05—0,03% bei 24—36stündiger Einwirkung besonders geeignet für die Untersuchung des CORTI'schen Organes, wenn die Schneckenkapsel vorher an einer Stelle eröffnet ist. SCHWALBE[114]) benutzte die 3—4wöchentliche Einwirkung von 0,05—0,03%igen Lösungen für das Studium der elastischen Fasern.

LIST[117]) empfiehlt zum Studium von Drüsenzellen 0,1%ige Chromsäurelösungen bis zu 8 Tagen einwirken zu lassen. Nach RAWITZ[115]) ist die Chromsäure weder allein, noch in der von ARNOLD (siehe oben) angegebenen Zusammenstellung für das Nervensystem der Evertebraten brauchbar. KOELLIKER[116]) empfiehlt für die Untersuchung der verhornten Zellen des Stratum corneum der Haut eine kurze Maceration in 0,05%iger Chromsäure.

MÖRNER[80]) macerirte dünne Knorpelschnitte (von der Luftröhre eines ausgewachsenen Thieres) dadurch, dass er sie abwechselnd kurze Zeit in eine concentrirte Lösung von Chromsäure (1 Theil Chromsäure auf 3 Theile Wasser) und dann zum Abspülen in Wasser brachte. Man kann auf diese Weise die Chondrinballen aus der Grundsubstanz herauslösen und das Balkennetz isoliren. MORAWITZ[21]) bestätigte die Angaben MÖRNER's, giebt aber an, dass dabei auch das Balkennetz in beträchtlichem Grade vom Rande her der Lösung verfällt.

BÖHM und OPPEL[37]) empfehlen zur Isolation des Axencylinders Nerven mit etwa 0,1%iger Chromsäure oder 0,2%iger doppeltchromsaurer Kalilösung oder in Holzessig einige Tage bis zu einer Woche zu behandeln und dann zu zerfasern.

Um die Bildung von Schimmel in Lösungen von Chromsäure und Chromsäuresalzen, welche längere Zeit stehen, zu vermeiden, kann man ein Stückchen Kampher oder Thymol hineinthun, oder (RANVIER) etwa 20—30 Tropfen 1%ige Karbolsäurelösung auf je 30 Grm. Flüssigkeit zusetzen.

c) Chromsäure-Essigsäure von MAYER[118]) zum Nachweis der Sphinkteren in den Flossen von Raja maculata verwandt. Frisch getödtete Thiere werden in 750 Volumen Wasser, 150 Volumen 1%iger Chromsäure und 80 Volumen Essigsäure für einige Stunden eingelegt; dann lässt sich die gesammte Epidermis in Fetzen ablösen und die Sphinkteren treten deutlich hervor.

d) Chromsäure, Essigsäure, Alkohol. BERNARD[119]) empfiehlt zur Isolirung der Epithelzellen der Prosobranchier eine 3—4stündige Maceration in einem Gemisch von 90%igem Alkohol 10 Grm., 0,1%iger Chromsäure 10 Grm., Glycerin 5 Grm., Essigsäure 5 Grm. und Wasser 200 Grm. Nach vorausgegangener Fixirung durch Alkohol oder eine andere Flüssigkeit kann man nachträglich noch maceriren in einem Gemisch von 90%igem Alkohol 10 Grm., Glycerin 5 Grm., Essigsäure 10 Grm. und Wasser 200 Grm.

12. Borsäure, concentrirte wässerige Lösung. ENGELMANN[120]) macerirte darin die Flimmerzellen von Anodonta und konnte damit, innerhalb der ersten Stunde untersucht, den Faserapparat der Zellen in seiner Lage sowie auch den Zusammenhang der Cilien mit den Stäbchen des »Deckels« deutlich machen.

13. *a)* Osmiumsäure wurde zuerst von M. SCHULTZE[121]) für Isolation der Elemente der Retina angewandt. Er fand, dass Koncentrationsgrade von 0,2% an abwärts nicht mehr vorwiegend erhärtend, sondern zugleich macerirend wirken. Er benutzte deshalb für Macerationszwecke bis zu 0,1% verdünnte Lösungen und liess sie auf isolirte Retinastücke ½—24 Stunden einwirken; dann übertrug er die Präparate in Wasser und zerzupfte in ihm. Zum Einlegen der Präparate fand M. SCHULTZE Glycerin nicht geeignet; dagegen empfiehlt er[122]) sehr eine nahezu gesättigte wässerige Auflösung

von essigsaurem Kali, welches wie Glycerin angewandt wird. Nach RANVIER[6]) sollen sich jedoch darin die Präparate noch viel weniger als in Glycerin halten.

NEUMANN[123]) legte zum Studium der Nervenregeneration verletzte Nerven 24 Stunden in eine 1%ige Lösung, alsdann noch einige Tage in destillirtes Wasser und zerfaserte sie dann. GOTTSTEIN[113]) liess Lösungen von 0,1—0,2% 24—36 Stunden lang auf die häutige Schnecke einwirken und erhielt dann durch Zerzupfen in der Macerationsflüssigkeit besonders schöne Bilder von den Pfeiler- und Haarzellen. RINDFLEISCH[124]) behandelte kleine Stückchen von der Hirnrinde des Kaninchens 10—14 Tage mit 0,1%iger Lösung und übertrug sie darauf für 1 Woche in reines Glycerin. Kleine Stücke von Stecknadelkopfgrösse brachte er dann in Glycerin auf einen Objektträger und konnte dann durch Klopfen auf das mit Wachsfüsschen gestützte Deckglas Ganglienzellen mit ihren Ausläufern sowie verzweigt und frei endigende Nervenfasern isoliren. KUHNT[50]) benutzte 0,15—0,3%ige Lösungen zur Maceration von markhaltigen Nervenfasern (Schwein, Kaninchen, Hund, Frosch). Nach 6—20stündiger Einwirkung liess sich der Axencylinder auf weite Strecken isoliren. ENGELMANN[120]) erhielt bei den Flimmerzellen der Muscheln bei mehrstündiger Einwirkung von 0,2%iger Osmiumsäurelösung nach vorausgegangener kurzer Erwärmung des Thieres auf 40—50° C sehr gut den Zusammenhang zwischen den Cilien und den Stäbchen des Deckels. 0,1%ige Lösungen lieferten manchmal ganz gute Bilder von dem Faserapparat und seinem Ursprung in der Zelle in situ. A. DOGIEL[125]) legt für Macerationspräparate von den Retinazellen die ganze Retina für 3 bis 20 Stunden in eine 1%ige Lösung von Osmiumsäure und bringt sie dann einige Tage bis Wochen in Wasser, das mit einigen Tropfen Osmiumsäure angesäuert ist. Menschliche Retina macerirte er[126]) in der Weise, dass er ganz frische Augen am Aequator halbirt und nach Entfernung des Glaskörpers in mehrere kleine Stücke zerschnitten in 1%ige Lösung für 18—24 Stunden einlegt. Dann wird die Retina vorsichtig von der Chorioidea abgetrennt, in eine geringe Menge Wasser gelegt und ist 24 Stunden später zum Zerzupfen fertig. Sie kann auch monatelang im Wasser liegen, nur ist dies mehrmals im Monate zu wechseln. Nach längerer Einwirkung von Wasser ist sie leichter isolirbar. CARNOY[7]) empfiehlt für die Isolation von Nervenzellen eine 0,1%ige Lösung 15 Tage lang einwirken zu lassen; für andere Zellen (ausgezeichnet für Blut) ist eine 0,7%ige Chlornatriumlösung zuzufügen. LIST[117]) räth für das Studium von Drüsenzellen kleine Gewebsstücke entweder 12—24 Stunden in eine 1%ige oder 24—48 Stunden in eine 0,5%ige Lösung einzulegen, 3—4 Tage auszuwaschen und in destillirtem Wasser oder verdünntem Glycerin (1 Volumen Glycerin, 1 Volumen destillirtes Wasser) zu zerzupfen. Man färbt mit Hämatoxylin oder verdünntem RENAUT'schen Hämatoxylinglycerin. PRENANT[127]) verwendet für die Isolation der Hodenelemente Einlegen in 1%ige Osmiumsäurelösung auf 12 Stunden und alsdann in 0,02%ige Lösung auf 2—15 Tage, für die Schnecke in 1%ige Lösung auf 1 Tag, darauf in 0,1%ige Lösung auf 4—5 Tage. RAWITZ[115]) hat die Osmiumsäure weder in schwacher noch in starker Lösung für die Isolation oder Härtung des centralen Nervensystems der Acephalen geeignet gefunden. RANVIER[6]) empfiehlt für die Darstellung der Retinaelemente, das Auge von Triton cristatus für 24 Stunden in eine 1%ige Osmiumsäurelösung einzulegen, dann am Aequator zu halbiren, für 2—3 Tage in destillirtes Wasser zu übertragen und in Wasser zu zerzupfen. Färbung in Pikrokarmin, Einlegen in Glycerin. Für die Isolation von Ganglienzellen räth er, 1 bis 2 Tropfen einer 2%igen Osmiumsäurelösung durch Einstich in die Spinalganglien zu injiciren und dieses dann in schwachem Jodserum zu zerzupfen. BÖHM und OPPEL[37]) empfehlen für denselben Zweck eine 0,01%ige Osmiumlösung (oder Drittelalkohol) in das Vorderhorn des Rückenmarkes zu inji-

ciren, die so fixirte Stelle herauszuschneiden, zu zerzupfen und in Glycerin einzulegen.

Rausch[128]) macerirt menschliche Fusssohlenhaut 1—2 Tage lang bei Körpertemperatur mit 1%iger Osmiumsäurelösung und findet, dass sich dann eine zusammenhängende Schicht abheben lässt, welche jedoch nicht das ganze Stratum corneum darstellt; die noch mit der Unterlage verbundenen wenigen Lagen Hornzellen lassen sich aber leicht abheben und sind zur Untersuchung wohl geeignet.

b) Osmium-Essigsäure nach O. und R. Hertwig.[129]) In eine Mischung von gleichen Theilen 0,05%iger Osmiumsäure und 0,2%iger Essigsäure werden Medusen 2—3 Minuten lang eingelegt, dann mit 0,1%iger Essigsäure zur Entfernung der Osmiumsäure gewaschen und einen Tag darin gelassen, schliesslich in reinem Wasser ausgewaschen, in Beale's Karmin gefärbt und in Glycerin aufbewahrt. Für Aktinien benutzt man 5—10 Minuten lang ein Gemisch von gleichen Theilen 0,04%iger Osmiumsäure und 0,2%iger Essigsäure, beide in Seewasser gelöst, und wäscht in 0,2%iger Essigsäure mehrere Stunden lang aus. Dann färbt man entweder nach dem Isoliren mit Pikrokarmin, oder vorher mit Beale's Karmin. Grosse Vortheile bietet dabei die Isolirung durch Klopfen aufs Deckglas. Lee-Mayer[130]) meint, dass Vorbehandlung mit Osmiumsäure, Hermann's oder Flemming's Gemisch und Nachbehandlung mit Pyrogallussäure ohne Zweifel oft noch bessere Resultate liefern würde.

P. Schultz[56]) isolirte glatte Muskelfasern folgendermassen. Ein Stück Gewebe wird möglichst frisch für 24 Stunden in 10%ige Salpetersäurelösung gebracht; darauf werden kleine Abschnitte nach flüchtigem Abspülen mit destillirtem Wasser in ein frisch bereitetes Gemisch von gleichen Theilen 0.05%iger Osmiumsäure und 0,2%iger Essigsäure (s. oben) gebracht und, anfangs im Dunklen, dann im Hellen 6—8 Tage daringelassen. Dann zerzupft man in Glycerinwasser oder isolirt durch Klopfen auf das Deckglas. Eventuell färben mit wässerigem Eosin.

Iwanzoff[131]) empfiehlt für die Nesselkapseln der Aktinien Maceration nach Hertwig (s. oben), darauf noch Fixation mit Dämpfen von Osmiumsäure 2—5 Minuten lang, dann kurzes Auswaschen in Seewasser oder destillirtem Wasser; weniger gut ist Ranvier's Drittelalkohol. Für die Nesselkapseln der Medusen macerirt er wie Hertwig (s. oben), oder er benutzt eine Lösung von Methylgrün und Gentianaviolett mit etwas Osmiumsäure, um gleichzeitig zu fixiren und zu färben.

c) Chrom-Osmium-Essigsäure nach Möbius: Chromsäure $2\frac{1}{2}$ Grm., Osmiumsäure 1 Grm., Essigsäure 1 Grm. in 1 Liter Ostseewasser gelöst, von Drost[132]) zur Maceration der Sinnesepithelien von Ostseemuscheln benutzt. Einwirkung einige Tage lang. Rawitz[111]) giebt an, dass man mit diesem Gemisch auch bei Wirbellosen des Landes und bei Wirbelthieren gute Resultate erzielt, wenn man anstatt des Seewassers destillirtes Wasser nimmt. A. S. Dogiel[133]) benutzte die Chrom-Osmium-Essigsäure nach Möbius (mit destillirtem Wasser), mit dem doppelten Volumen destillirten Wassers (also auf $\frac{1}{3}$) verdünnt zur Maceration des Harnblasenepithels.

Chrom-Osmium-Essigsäure nach Flemming. List[134]) schneidet zur Isolation von Aktinienepithelien die Tentakel von Anthea und Sagartia unter Wasser ab, saugt dieses ab und fügt ein Gemisch von 3 Volumen starker Flemming'scher Lösung und 10 Vol. Seewasser hinzu. Nach 10 Minuten wäscht er sie in 0,2%iger Essigsäure 2—3 Stundon lang aus und zerzupft sie in 50%igem Glycerin. Für die Isolation der Ganglienzellen und der Stützlamelle pinselt er ab. Färbung in Pikrokarmin.

14. Wasserstoffsuperoxyd, käufliche Lösung, neutral gemacht, ist nach Rausch[128]) das beste Macerationsmittel für die Hornzellen der normalen

menschlichen Haut (Fusssohle), durch welches auch das Relief der Hornzellen ausgezeichnet erhalten wird. Es genügt, kleine Hautstückchen für 1 Tag bei Körpertemperatur einzulegen. Dann bringt man etwas von dem Hornzellenbrei auf den Objektträger, setzt einen Tropfen Essigsäure hinzu und breitet mit Hilfe eines anderen Objektträgers die Zellen auseinander. Nun werden die Zellen über der Flamme fixirt und gefärbt. Die beste Färbung dafür ist: 1. Polychrome Methylenblaulösung, dreimal durch die Flamme ziehen, bis sie eben aufdampft. 2. Kurz in schwach angesäuertes Wasser, dann Abspülen mit gewöhnlichem Wasser. 3. 1%ige Lösung von rothem Blutlaugensalz: 1 Minute. 4. Kurz in schwach angesäuertes Wasser, dann Abspülen mit gewöhnlichem Wasser. 5. Alkohol, Oel, Balsam. Zellen färben sich verschieden.

15. *a)* Jodtinktur, Jodkalium von Rausch[128]) zur Maceration des Stratum corneum der menschlichen Epidermis (Fusssohle) gebraucht. Er benutzt ein Gemisch von 2 Theilen Jodtinktur und 1 Theil Wasser und wendet das Jodkalium in koncentrirter wässeriger Lösung an. Nach 1—2tägiger Einwirkung bei Körpertemperatur lassen sich die Hornzellen als Brei abheben und isoliren. Die Mittel sind sehr gut zur Darstellung des Reliefs der Hornzellen geeignet. Ueber Färbung derselben siehe bei: Wasserstoffsuperoxyd.

b) Jodjodkaliumlösung nach J. Arnold.[135]) 10 Theile einer 10%igen Jodkalilösung werden versetzt mit 5—10 Tropfen eines Gemenges, welches in 100 Grm. Wasser 10 Grm. Jodkali und 5 Grm. reines Jod enthält. Man benutzt möglichst kleine Gewebspartikel. Wird die Flüssigkeit nach einiger Zeit heller, so fügt man wieder einen Tropfen koncentrirte Jodjodkalilösung hinzu. Locker gefügte Gewebselemente sind sofort zur Untersuchung geeignet; kompaktere Gebilde sind nach 12—48 Stunden, quergestreifte Muskeln und Ganglienzellen des Rückenmarkes bei öfterem Umschütteln erst nach 4—8 Tagen isolirbar. Arnold empfiehlt auch, die Stärke der Lösung und die Dauer der Einwirkung zu variiren. Nach der Isolirung eventuell sedimentiren oder centrifugiren und nach Abgiessen der Flüssigkeit Nachbehandlung mit anderen Reagentien (1%ige Osmiumsäure oder 4%iges Formol 24 Stunden, dann Alkohol von steigender Koncentration, Färben mit Eosin). Zur Isolirung der verschiedensten Zellarten und Untersuchung ihrer inneren Struktur.

16. *a)* Jodserum, von M. Schultze[136]) angegeben. Man nimmt einen ganz frischen trächtigen Uterus von der Kuh oder vom Schaf (nach Ranvier[6]) bietet nur das Amnioswasser der Säugethiere wirkliche Vortheile), schneidet Uteruswand und Eihäute ein, fängt das Serum, welches klar und citronengelb sein muss, in einer Flasche auf, fügt Blättchen reinen Jods dazu und schüttelt täglich um. Die Flüssigkeitsschicht soll höchstens 2 bis 3 Cm. betragen. Allmählich löst sich immer mehr Jod, die Flüssigkeit wird nach 1 bis 2 Monaten dunkelbraun und ist dann besonders geeignet, um frisches Serum zu jodiren. Oder man mischt das frische Serum mit viel reiner Jodtinktur und filtrirt.

Von dieser stark jodirten Lösung giesst man alle 2—3 Tage etwas in gewöhnliches Serum, das zum Gebrauche bestimmt ist. Frische Gewebsstückchen, kleiner als eine Erbse, werden mit 4—5 Ccm. schwach jodirtem (hellbraun gefärbten) Serum in eine gut verschlossene Flasche gebracht. Gewöhnlich kann schon nach 24 Stunden die Isolirung der Elemente vorgenommen werden. Ist das Gewebe noch nicht weich genug, so muss man es länger in der Flüssigkeit lassen, muss aber jedesmal, wenn das Serum infolge der Absorption des Jods durch die Gewebe blass wird, wieder etwas stark jodirte Lösung zufügen. So kann das Gewebe, ohne dass Fäulniss eintritt, mehrere Wochen lang macerirt werden.

Pflüger[105]) isolirte Speicheldrüsenzellen mit anhängenden Nervenfäden dadurch, dass er Speicheldrüsen bei Zimmertemperatur 5 Tage lang in Jodserum, dann 24 Stunden in 0,04%ige Chromsäurelösung einlegte. Boll[112]) lobt diese Methode (Jodserum mehrere Tage, dann 24 Stunden in Chromsäure von 0,03%, resp. Kaliumbichromat von 0,1% für die Isolirung der Körbchenzellen in der Thränendrüse).

Frey[137]) hat ein künstliches Jodserum empfohlen: Destillirtes Wasser 270 Grm., Hühnereiweiss 30 Grm., Kochsalz 2,5 Grm. Man filtrirt und fügt Jodtinktur hinzu. Ranvier[6]) hat mit diesem Verfahren nie ein brauchbares Serum erhalten.

Viel angewendet für die verschiedenartigsten Organe.

b) Jodserum und Müller'sche Lösung oder 0,2%ige doppelt-chromsaure Kalilösung (nach F. E. Schultze) wird von Flemming[138]) für die Isolation der pinseltragenden Zellen in der Oberhaut der Cephalophoren als bestes empfohlen. Man benutzt

Gemische, welche zwischen 6 Theilen Jodserum: 4 Theilen chromsauren Kalis (oder MÜLLER-scher Lösung) und 5 Theilen : 5 Theilen schwanken und lässt 8—36 Stunden und länger einwirken.

c) Jodserum und Oxalsäure, kalt gesättigt, je zu gleichen Theilen, nach M. SCHULTZE wird von BOLL [139]) für die Maceration der Molluskenhaut sehr empfohlen. Sie ist für diesen Zweck besser als reine Oxalsäure. Nach FLEMMING [138]) erhält sie dagegen die Zellenformen bei den Cephalophoren sehr mangelhaft.

17. Salpetersaures Natron nach LOTT [140]) in 10%iger Lösung für die Isolation von Epithelien, besonders der Kornea. Das Epithel lässt sich nach mehrtägiger Einwirkung in grossen Lamellen abziehen, wird dann ausgewaschen und zerfällt bei sanftem Drucke in seine Elemente. Ohne auszuwaschen kann es noch versilbert werden.

18. *a)* Kochsalz, koncentrirte Lösung, ist nach RAUSCH [128]) ein gutes Mittel, die Hornzellen des Stratum corneum der menschlichen Epidermis zu isoliren. Er lässt die Lösung 1—2 Tage lang bei Körpertemperatur einwirken. Bei Anwendung schwächerer Lösungen ist das Relief der Hornzellen stellenweise aufgequollen. Ueber die Färbung der isolirten Hornzellen siehe bei: Wasserstoffsuperoxyd.

b) Kochsalz, 10%ige Lösung, wurde von L. GERLACH [141]) zur Maceration des Dünndarmes bei der Darstellung des Plexus myentericus benutzt. Genaueres siehe bei: Chromsaures Kali. Auch wendete er sie an, um die Ganglienzellen des Plexus zu isoliren; für diesen Zweck liess er die abgezogene Längsmuscularis 8—10 Tage in einer täglich erneuten 10%igen Kochsalzlösung liegen, färbte sie dann mit Karmin und zerzupfte sie in Glycerin.

TILLMANNS [142]) zerlegte frischen, von den Weichtheilen gesäuberten hyalinen Knorpel (Hund, Kaninchen) durch 3—7tägige Maceration in 10%iger Kochsalzlösung in Fasern und Faserbündel

BABER [143]) konnte dagegen nach 4—10tägiger Maceration in 10%iger Lösung die faserige Struktur nur sichtbar machen, wenn er einen Druck auf das Deckglas ausübte. Er erhielt die Fasern aber auch nach 6 Tagen bei einer 0,5%igen Lösung, wenn er fortdauernd einen Druck ausübte.

ENGELMANN [120]) konnte im Darmepithel von Anodonta, wenn es frisch in 10%iger Kochsalzlösung zerzupft wird, den intracellulären Fadenapparat isoliren. LIST [117]) empfiehlt für die Isolation geschichteter Pflasterepithelien auch 10%ige Kochsalzlösung bei ein- bis mehrtägiger Einwirkung.

LEWIS [144]) stellt Präparate von der Cuticula von Chätopoden dar, indem er die durch Alkohol betäubten Thiere in 10%ige Kochsalzlösung einlegt und dann die abmacerirte Cuticula mit Messer und Pincette loslöst.

10%ige Lösung wird auch vielfach als Isolationsmittel für glatte Muskelfasern empfohlen. Einwirkungsdauer 24 Stunden.

c) Kochsalz, schwächere Lösungen.

MINOT [145]) benutzte 0,6%ige Lösung (mit 0,1% Thymol versetzt) zur Isolirung der Epidermis bei menschlichen und anderen Embryonen. Er legt die Embryonen für einige Tage ein, löst die Haut ab und macht Flächenpräparate. Die Kerne sind gut erhalten und färbbar und die Präparate auch für das Studium der Haarentwicklung brauchbar. MINOT benutzte solche Präparate zum Nachweis des Vorkommens eines Epitrichium beim menschlichen Embryo. KÖLLIKER [116]) empfiehlt die Maceration der Epidermis in 0.5%iger Lösung zur Untersuchung der Hornzellen des Stratum corneum.

K. BALLOWITZ [146]) macerirt die Samenkörper der Arthropoden mit 0,6—3%igen Lösungen zum Nachweis der fibrillären Struktur des Endstückes. Die geeigneten Koncentrationsgrade müssen für jedes Thier erst ausprobirt werden. Er lässt die Lösungen 12 bis 24 Stunden auf den Objektträger einwirken und umgiebt das Deckglas mit einem Wachsring. Dann kann man unter dem Deckglas Gentiana- oder Methylviolett (0,5—1%ige wässerige Lösung) färben.

d) Kochsalz-Alkohol.

MOLESCHOTT und PISO-BORMÉ [147]) empfehlen für die Isolirung von Flimmerepithelzellen der Säugethiere und des Menschen ein Gemisch aus 5 Vol. 10%iger wässeriger Kochsalzlösung und 1 Vol. absoluten Alkohols und lassen sie 24 Stunden und länger einwirken; auch für Darmepithelien und andere gut, nicht aber für das Flimmerepithel vom Frosch. RANVIER [148]) findet es nicht so gut, empfiehlt aber für besondere Zwecke ebenfalls ein Kochsalz-Alkohol-Gemisch; siehe bei Drittelalkohol.

19. Kohlensaures Kali oder kohlensaures Natron 10 Grm., Alkohol 30 Ccm., Wasser 60 Ccm. ist nach RAUSCH[128]) ein vorzügliches Mittel, um damit bei Körpertemperatur in 1—2 Tagen die Hornzellen des Stratum corneum der menschlichen Epidermis abzumaceriren. Auch andere Koncentrationsgrade geben gute Resultate. Das Relief der Hornzellen ist umso besser erhalten, je koncentrirter die angewandte Lösung ist. Ueber Färbung der isolirten Hornzellen siehe bei: Wasserstoffsuperoxyd.

20. Saures kohlensaures Natron (Natriumbikarbonat) wendet MALL[149]) in kaltgesättigter Lösung an, um nachzuweisen, dass an der Membrana propria der Nierenkanälchen neben der äusseren retikulirten Schicht noch eine innere homogene Schicht vorhanden ist. Er legt Gefrierschnitte für einige Tage ein, schüttelt sie dann kräftig mit Wasser aus, breitet sie auf dem Objektträger aus, trocknet sie an, färbt mit Fuchsin, differenzirt mit Pikrinsäure und schliesst sie in Balsam ein.

21. Kohlensaures Ammoniak, kalt gesättigte Lösung, von SOLGER[150]) für die Darstellung des Sarkolemms empfohlen. Frische, möglichst dünne Stückchen von quergestreiften Muskeln (Frosch) werden für 3—5 Minuten in die Lösung gebracht und darin oberflächlich, später auf dem Objektträger in gleicher Flüssigkeit weiter zerzupft. Das Sarkolemm hebt sich blasenförmig ab. Bei Thieren, welche schon einige Zeit in Gefangenschaft leben, scheint die Reaktion rascher und ausgiebiger einzutreten; bei anderen Thieren lege man die Muskeln erst einige Minuten bis $^1/_4$ Stunde nach dem Tode in die Macerationsflüssigkeit.

LEE-MAYER[130]) empfehlen kohlensaure Alkalien zur Isolation der Elemente von Nägeln und Haaren.

22. Doppeltchromsaures Kali ist zuerst von C. ECKHARD[151]) in »ziemlich koncentrirter« Lösung für die Isolation der Zellen der Regio olfactoria benutzt worden. Er legte die Stücke (Frosch) für 1 Stunde ein. M. SCHULTZE[1]) erhielt mit dieser Methode am gleichen Objekt nur unvollkommene Bilder, sehr gute jedoch bei Kaltblütern dann, wenn er 0,2 bis 0,8%ige Lösungen mehrere Tage bis Wochen (bei längerer Einwirkung Thymol oder Kampher!) einwirken liess. Bei Warmblütern werden zwar sonst alle Epithelschichten gut erhalten, selten aber die Riechzellen über grössere Strecken. Je dünner die Lösung ist, um so länger müssen die Präparate darin bleiben. Die Varikositäten der Nervenfasern sind mit dünnen Lösungen (Frosch: 0,2%ige Lösung 6 Wochen lang) viel besser zu erhalten als mit stärkeren. Für warmblütige Thiere sind nur dünne Lösungen brauchbar bei kurzer Einwirkung (für Hund und Schaf 0,05—0,1%ige Lösungen 24 Stunden bis sechs Tage lang). DEITERS[106]) bediente sich bei der Anfertigung seiner Isolationspräparate über die Ganglienzellen des Centralnervensystems ebenfalls hauptsächlich des doppeltchromsauren Kali, theils allein, theils mit anderen Reagentien kombinirt, und macht ausführliche Angaben über die Wirkungsweise verschieden starker Lösungen u. s. w. Als Untersuchungsobjekte empfiehlt er am meisten Kalb und Rind. Lösungen von über 0,4% sind für diesen Zweck unbrauchbar. Die passende Stärke der Lösung hängt ab von dem Alter des Thieres, von dem Grössenverhältniss zwischen Präparat und Macerationsflüssigkeit, von der Frische des Präparates, von der Temperatur u. s. w. Man soll möglichst frisches Material und jedesmal nicht zu viel Flüssigkeit nehmen. Das Präparat, welches vorher nicht in Wasser gebracht werden darf, kommt anfangs in eine 0,1%ige Lösung von doppeltchromsaurem Kali (nicht gewechselt) für 2 Tage, ist dann bisweilen für die Untersuchung geeignet, oder kommt für 1 Tag in 0,2%ige und dann für 1 Tag oder ein paar Tage in 0,4%ige Lösung; darauf wird es unbrauchbar. Für manche Objekte ist es besser, sie erst bis zwei Tage lang mit 0,007 bis 0,01—0,02%igen Chromsäurelösungen zu behandeln; bisweilen genügt dies für die Isolation, bisweilen müssen die Stücke noch je 1 Tag in eine 0,1%ige, 0,2%ige und 0,4%ige Lösung von doppeltchromsaurem Kali gebracht werden. Oder man bringt die Theile zuerst für 2 Tage in eine 0,007—0,02%ige Chromsäurelösung, dann für 1 Stunde in verdünnte Kalilauge (1 Tropfen Kalilauge spec. Gew. 1,264 auf 30 Grm. Wasser), neutralisirt dann mit einem Tropfen Oxalsäure oder wäscht wiederholt mit äusserst dünner Chromsäure oder chromsaurer Kalilösung aus und überträgt für je 1 Tag in 0,1%ige, 0,2%ige und 0,2—0,4%ige Lösung von doppeltchromsaurem Kali.

BOLL (1868) liess erst Jodserum und dann doppeltchromsaures Kali einwirken, siehe bei Jodserum. Für die Isolation der Elemente der epithelialen Decke von Mollusken macerirt er[133]) sie in 1%iger Lösung von doppeltchromsaurem Kali. FLEMMING[138]) lobt letztere Koncentration (1%) ausserordentlich für Najaden und Unioniden, auch Cyclas und Tichogonia, benutzt aber auch stärkere, 4—6%ige Lösungen. Siehe auch bei Jodserum. L. GERLACH[141]) untersucht den Plexus myentericus des Darmes von Warmblütern, nachdem er die Längsmuskularis, an welcher der Plexus hängen bleibt, von der Ringmuskellage abgehoben. Beim

Meerschweinchen, Kaninchen, Taube geht dies leicht frisch, besser, wenn man den Darm 12—24 Stunden in verdünnten Lösungen von doppeltchromsaurem Kali (oder 10%iger Kochsalzlösung) hat liegen lassen. Den Darm vom Schaf, Schwein, Mensch muss man erst Tage lang in diesen Lösungen maceriren. Dann wird das Präparat mit Karmin gefärbt und 24 Stunden in angesäuertes Glycerin gelegt. Man kann das Geflecht auch mit Gold imprägniren, indem man das Präparat erst 3—4 Tage in eine ungefähr 0,3%ige Lösung von doppeltchromsaurem Kali, dann bis zur Violettfärbung der Ränder (höchstens 6—8 Stunden) in eine 0,01%ige Goldchloridlösung bringt, darauf tüchtig auswäscht, in Alkohol entwässert und in Kanadabalsam einschliesst. ENGELMANN [120]) konnte am Darmepithel von Anodonta, wenn es frisch in 4%iger Lösung von doppeltchromsaurem Kali zerzupft wurde, den intracellulären Fadenapparat isoliren. BROCK [152]) macerirte marine Mollusken 12—24 Stunden lang in einer 1%igen Lösung von doppeltchromsaurem Kali, welcher die Leibeshöhlenflüssigkeit der Thiere bis zu gleichem Volumen zugesetzt war, und erhielt damit ausgezeichnete Isolationspräparate des Centralnervensystems. RAWITZ [115]) fand das centrale Nervensystem der Acephalen in 0,1%iger, 0,05%iger und 0,025%iger Lösung in 8—24 Stunden vollständig macerirt und in seinen Theilen vorzüglich erhalten. Längere Einwirkung erweicht zu sehr. EISIG [153]) lobt das doppeltchromsaure Kali ausserordentlich für die Maceration von Capitelliden. Er nimmt für zahlreiche ganze Thiere 1%ige, für einzelne Individuen oder Theile von ihnen ½%ige Lösungen in reichlicher Menge und lässt sie Tage, Monate, Jahre lang einwirken. Bei längerer Einwirkung wechselt er nach 24 Stunden die Flüssigkeit und fügt ihr einige Thymolkrystalle bei. Dann wird entweder in der Macerationsflüssigkeit zerzupft, in 50%igem Glycerin ausgewaschen und in Glycerin oder FARRANT's Gemisch eingelegt oder im Stück gefärbt (mit kräftiger wässeriger Eosinlösung) und dann zerzupft. Ersteres ist wohl mehr zu empfehlen. DROST [132]) macerirt Ostseemuscheln (Montacuta bidentata) mit einem Gemisch von 1 Theil Ostseewasser und 4—6 Theilen einer ½%igen doppeltchromsauren Kalilösung. Die Sinneszellen lassen sich so isoliren, allerdings ohne die Haare. KÖLLIKER [116]) empfiehlt die Maceration der menschlichen Epidermis in 1%iger Lösung von doppeltchromsaurem Kali zur Untersuchung der Hornzellen des Stratum corneum. FAJERSZTAJN [154]) findet als bestes Macerationsmittel für die Isolirung der Zellen in den Endscheiben der Froschzunge ein Gemisch von 96 Grm. 1%iger Chloralhydratlösung und 4 Grm. doppeltchromsaurem Kali. Er legt die ganze Froschzunge oder Stücke der Gaumenschleimhaut für 12—60 Stunden ein und zerzupft die Endscheiben in einer sehr schwachen Eosin-Jodgrünlösung. APÁTHY [63]) fixirt zur Isolirung der leitenden Primitivfibrillen der Hirudineen in Sublimat-Eisessig-Alkohol für ½ Stunde, überträgt dann für 24 Stunden in 70%igen Alkohol, darauf für 3 Tage im Dunkeln in eine frisch bereitete 1%ige Lösung von doppeltchromsaurem Kali in 70%igem Alkohol [155]), dann in 70%igen Alkohol und schliesslich in 50%iges Glycerin.

23. *a)* MÜLLER'sche Lösung (siehe auch bei Jodserum) wurde von SAVIOTTI [156]) zur Isolation der Pankreaszellen des Kaninchens angewandt (Einwirkung 6—10 Stunden), von SCHWALBE [157]) zur Maceration der Elemente der Suprachorioidea. v. WYSS [158]) empfahl zur Isolation der Zellen der Geschmacksknospen als bestes Mittel, die Zungen frisch für etwa 3 Wochen in MÜLLER'sche Lösung einzulegen. v. MIHALKOVICS [79]) benutzte sie für die Isolirung der Hodenkanälchen, erhielt jedoch höchstens 18—20 Cm. lange Stücke. BORN [39]) verwendete MÜLLER'sche Lösung für die Isolation quergestreifter Muskelfasern von Säugethierembryonen. Kleine Embryonen kommen unzertheilt, von grösseren einzelne Körpertheile mit der Haut auf 6—8 Wochen in die oft gewechselte Lösung. Dann werden die Muskeln herausgeschnitten, grob zerkleinert und im Reagenzglas mit verdünnter Lösung (soweit verdünnt, dass sie nicht mehr schäumt) tüchtig geschüttelt. Sehnen und Fascientheile werden entfernt und das Schütteln wiederholt, bis sich eine Wolke aus isolirten Bruchstücken bildet. Darauf werden diese in Glycerin übertragen, wo sie nach 8 Wochen leicht zerlegt werden können.

J. STILLING [159]) benutzte die MÜLLER'sche Lösung als Vorbehandlung für die Zerfaserung von Gehirntheilen. Man härtet längere Zeit in MÜLLER'scher Lösung, wäscht gut in Wasser aus und bringt die Präparate entweder längere Zeit in Alkohol, um dann zu zerfasern. Oder man überträgt sie nur kurze Zeit in Alkohol, zerfasert oberflächlich, überträgt sie dann in Glycerin, bis sie weich werden und beendet die Zerfaserung dann unter Wasser, solche Präparate kann man mit Pikrokarmin rasch färben, entwässern, in Nelkenöl und schliesslich in Balsam einlegen. Drittens kann man gut gehärtete Präparate in Holzessig (rohen oder gereinigten) übertragen und dann unter Wasser präpariren; sie können mit Pikrokarmin gefärbt werden.

TRINKLER [160]) benutzte MÜLLER'sche Lösung mit schwacher Kochsalzlösung verdünnt (nach KUTSCHIN) zur Maceration des Epithels und der

Drüsenelemente des Magens und erhielt sehr gute Resultate damit. KOGANEI[161]) hat für die Untersuchung der Iris die MÜLLER'sche Lösung besonders geeignet gefunden. Nach längerer Einwirkung kann man das Pigmentepithel mit einem recht feinen und ziemlich starren Pinsel entfernen und kann auch einzelne Elemente durch Zerzupfung isoliren. LIST[117]) empfiehlt MÜLLER'sche Lösung zum Studium von Drüsenzellen. Die Gewebsstücke werden für mehrere Wochen eingelegt, dann 24—48 Stunden in Wasser ausgewaschen und lassen sich dann leicht isoliren. Sie können dann in Methylgrün (1%) oder Anilingrün (1%) oder salpetersaurem Rosanilin gefärbt werden, entfärben sich aber bei Glycerineinschluss bald wieder. APATHY[63]) isolirt die Muskeln von Ascaris durch wochen- oder monatelanges Einlegen in unverdünnte MÜLLER'sche Lösung (sehr oft gewechselt, frisch bereitet); er untersucht und bewahrt sie in derselben Lösung auf. Um sie zu färben, legt er kleine Gewebsstücke aus der MÜLLER'schen Lösung nach kurzem Abspülen auf 1—24 Stunden in eine ½—1%ige wässerige Lösung von Hämatoxylinkrystallen. Dann wäscht er in destillirtem Wasser aus, bis kein Farbstoff mehr abgegeben wird, und zerzupft in verdünntem oder unverdünntem Glycerin. EWALD[162]) findet die MÜLLER'sche Lösung für Flimmerzellen (Gaumenschleimhaut oder Oesophagus vom Frosch) besser als Drittel-Alkohol. Er legt die Stücke für 24 Stunden ein, wäscht dann aus, färbt in ⅓%iger einfacher wässeriger Lösung von Hämatoxylin 1 Stunde lang, wäscht wiederum mehrfach aus, bringt sie in 50%igen Alkohol und schliesst sie in Glycerinleim ein (s. auch Einleitung zum Artikel Maceration). Die feinere Struktur der Cilien bleibt vielfach deutlich. KAPELKIN (1897) macerirt die Haut von Petromyzon in MÜLLER'scher Lösung; Genaueres siehe bei Drittel-Alkohol. v. EBNER[35]) isolirt aus embryonalen Säugethier- und aus erwachsenen menschlichen Herzen, welche einige Tage in MÜLLER'scher Lösung gelegen haben, durch Zerzupfen an den Annuli fibrosi natürliche, sich zuspitzende Enden von Muskelfasern, theilweise noch im Zusammenhang mit Sehnengewebe, wobei Färbung mit Eosin vortheilhaft ist. FRIEDLÄNDER-EBERTH[163] giebt an, dass sich von Präparaten, welche längere Zeit in MÜLLER'scher Lösung oder in 2%iger Lösung von doppelt-chromsaurem Kali gelegen haben und gut erhärtet sind, gute Isolationspräparate gewinnen lassen, wenn man kleine Gewebsstücke auf mehrere Stunden bis mehrere Tage in Glycerin überträgt und dann in Wasser zerzupft. Die Theile dürfen jedoch nicht zu brüchig sein.

MÜLLER'sche Lösung, 10%ig, besonders für Epithelien und Drüsen. Für Trachea, Darm u. s. w. genügen 2—3 Stunden, für geschichtete Epithelien der Haut, Mundhöhle u. s. w. 1—3 Tage. Dann Abschaben und durch Klopfen auf das Deckglas isoliren. Färben in Eosin oder einer Mischung 1,5 Ccm. 1%iger wässeriger Lösung von Methylgrün, 1 Ccm. ½%iger wässeriger Lösung von Eosin und 100 Ccm. physiologischer Kochsalzlösung. Einlegen in Glycerin oder Glycerinleim (GAGE and KINGSBURY).[164])

b) MÜLLER'sche Lösung — Speichel wurde zuerst von CZERNY[165]) zur Isolirung der Epithelzellen (Stachelzellen) bei Staphyloma corneae warm empfohlen. Er vermischte MÜLLER'sche Lösung (½%iges doppelt-chromsaures Kali und ¼%iges salpetersaures Natron) mit der vierfachen Menge einer filtrirten Mischung von gleichen Theilen frisch gesammelten Speichels und destillirten Wassers. Die Zellen lassen sich gewöhnlich schon am zweiten Tage durch leichtes Schaben mit dem Messer ablösen und eventuell durch Klopfen auf das Deckglas isoliren. Für die Maceration des Epithels einer Ochsenzunge waren 4—7 Tage erforderlich. P. LANGERHANS[166]) empfiehlt dieselbe Methode als ganz ausgezeichnet und wenig eingreifend für die Isolirung der Herzmuskelfasern (Vögel, Säugethiere, Mensch). Einwirkung 1—3 Tage auf kleine Stücke. CALBERLA[167]) erhielt mit dem gleichen Gemisch für die Isolation embryonaler Muskeln und Nerven sehr gute Resultate, konnte aber dann, wenn er an Stelle von Speichel nur entsprechende Salzlösungen anwandte, die gleichen, wenn nicht bessere Erfolge erzielen (siehe folgenden Absatz).

c) MÜLLER'sche Lösung — künstlicher Speichel (siehe auch vorhergehenden Absatz), von CALBERLA[167]) als bestes Macerationsmittel für embryonale Muskeln und Nerven

der Amphibien und Reptilien angegeben. Man löst 4 Grm. Chlorkalium, 3 Grm. Chlornatrium, 2 Grm. phosphorsaures Natron und 2 Grm. Chlorcalcium in 1 Liter Wasser, sättigt die Lösung mit Kohlensäure und verdünnt sie mit 1 Liter Wasser und $1/2$ Liter MÜLLER'scher Lösung oder (für jüngere Embryonen) $1/2$ Liter $2\frac{1}{2}\%$iger Lösung von chromsaurem Ammoniak. Die besten Macerationsresultate erhält man, wenn man die Lösung erst kurz vor dem Gebrauche mit Kohlensäure sättigt. Durch Zerzupfen und Schütteln lassen sich die embryonalen Muskelzellen leicht isoliren. Einlegen in essigsaures Kali.

24. Chromsaures Ammoniak, zuerst von R. HEIDENHAIN[49]) in 5%iger wässeriger Lösung zur Isolation der Epithelien der Harnkanälchen verwandt und sehr gelobt. Die in die Lösung eingelegten Stücke können nach 24 Stunden untersucht, aber auch ohne Schaden monatelang darin aufbewahrt werden. Vortheilhaft ist es, die Stücke vor dem Zerzupfen noch 24 bis 48 Stunden in destillirtes Wasser zu legen. LAVDOWSKY[168]) benutzte die gleichstarke Lösung an den Speichel- und Orbitaldrüsen als zweckmässigstes Mittel zur Isolation der Körbchen- und Epithelzellen. BÖHMIG[169]) macerirte die Thiere auch in $0{,}025-0{,}1\%$igen Lösungen von chromsaurem Ammoniak, chromsaurem Kali und Chromsäure, fand diese aber nicht so geeignet wie doppeltchromsaures Ammoniak.

25. Chromsaures Ammoniak (LANDOIS' Gemisch), mitgetheilt von GIERKE.[170]) Destillirtes Wasser 100 Ccm. und je 5 Grm. der gesättigten Lösung von neutralem chromsauren Ammoniak, phosphorsaurem Kali und schwefelsaurem Natron. Man legt die Stücke für 1—3, 4 oder 5 Tage ein und überträgt sie dann in ein Gemisch von Karminammoniaklösung und obiger Flüssigkeit zu gleichen Theilen. Dann auswaschen und zerzupfen in Glycerin. GIERKE lobt sie besonders für das Centralnervensystem. Auch NANSEN[171]) und MAYER (in LEE-MAYER)[130]) loben es, letzterer für Wirbelthiere. FISCHEL[172]) empfiehlt das Gemisch (in etwas anderer Form) ebenfalls sehr für das Centralnervensystem. Er fixirt zuerst 4—6 Tage im Dunkeln, in einer Mischung von 25 Theilen Ameisensäure, 25 Theilen destillirten Wassers und 50 Theilen 1%iger salpetersaurer Silberlösung, wäscht dann in Wasser aus und macerirt in einem Gemisch von: destillirtem Wasser 100 Ccm. neutralem chromsauren Ammoniak, phosphorsaurem Kali und schwefelsaurem Natron je 5 Grm.

26. Doppeltchromsaures Ammoniak wurde von H. SCHULTZE[173]) zur Isolation der Nervenelemente in $0{,}1-0{,}2\%$iger Lösung angewandt. Er lobt besonders, dass es nicht nachschrumpfend wirke. BÖHMIG[169]) giebt dem Mittel ebenfalls den Vorzug vor anderen. Er legt die aus den Thieren herauspräparirten Schlundknochen für 2—3 Tage in eine 0,025 bis $0{,}1\%$ige Lösung ein und färbt sie schliesslich mit Pikrokarmin. RAWITZ[115]), welcher $0{,}1\%$ige Lösung anwandte, hat es dagegen für Isolationen am Nervensystem der Acephalen weniger geeignet befunden, als das Kalisalz, da es das centrale Nervennetz stark verändert oder zerstört.

27. Uebermangansaures Kali wurde zuerst von A. ROLLETT[174]) benutzt zur Isolirung der Fibrillen in der Hornhaut und in der Sehne. Kleine Hornhautstücke werden mit einer halbgesättigten Lösung des Salzes übergossen; diese entfärbt sich rasch und wird dann abgegossen. Darauf wird das gebräunte Gewebsstück mit destillirtem Wasser gewaschen und wieder mit der Salzlösung übergossen. Dies wird solange wiederholt, bis die über dem Gewebsstück stehende Salzlösung auch nach mehrstündigem Stehen nicht mehr entfärbt wird. Dann wird in Wasser ausgewaschen und die Fibrillen durch Schütteln im Reagenzglas isolirt. Um jedes Aufquellen zu vermeiden, kann man der Lösung von übermangansaurem Kali jedesmal soviel einer concentrirten Alaunlösung zusetzen, als eben hinreicht, um blaues Lackmuspapier deutlich roth zu färben; der sich bildende feine Niederschlag von Mangansuperoxyd und Aluminiumoxydhydrat stört bei der Beobachtung nicht. TILLMANNS[142]) macerirte Stückchen hyalinen Knorpels 3—7 Tage lang in einer mittelstarken (»mitteldunkelviolett gefärbten«) Lösung von übermangansaurem Kali, welche täglich mindestens 4—6mal gewechselt werden muss, und wusch dann ordentlich in Wasser aus. Er isolirte so die Fibrillen der Grundsubstanz. BABER[143]) wandte für denselben Zweck Lösungen von 0,04 und $0{,}02\%$ an, erhielt aber nur unsichere Resultate.

28. Molybdänsaurer Ammoniak von KRAUSE[175]) in 5%iger wässeriger Lösung, die neutral reagiren soll, als indifferente Untersuchungsflüssigkeit und zur Maceration der Körbchenzellen in der Submaxillardrüse der Katze und des Kaninchens empfohlen. Frische Drüsen werden in ein vierfaches Volumen der Lösung für einige Tage eingelegt. R. HEIDENHAIN[40]) hat für die Maceration der Epithelien der Harnkanälchen eine $2\frac{1}{2}-5\%$ige Lösung angewandt und in manchen Fällen eine ganz vorzügliche Isolation der Zellen erhalten, während die Methode in anderen Fällen vollständig versagte.

29. Barytwasser, Kalkwasser (immer frisch bereitet!) wurde zuerst von A. ROLLETT[174]) verwendet zur Isolirung der Bindegewebsfibrillen. Er

legt Sehnen, theilweise nachdem er sie der Länge nach durch einen Schnitt aufgeschlitzt hatte, oder Cutis oder Sklera in die Flüssigkeiten ein und kann sie aus Barytwasser nach 4—6 Stunden, aus Kalkwasser nach 6—8 Tagen auf dem Objektträger zerzupfen, nach längerer Einwirkung auch durch Schütteln im Reagenzglase die Fibrillen isoliren. Der in den Geweben enthaltene Baryt oder Kalk muss entfernt werden entweder durch längeres Auswaschen in reinem oder durch Ausspülen in ganz schwach mit Essigsäure angesäuertem Wasser. BABER[143]) untersuchte Knorpel mit diesen Mitteln und konnte bei Anwendung von Barytwasser nach 1/4—3 Stunden, bei Anwendung von Kalkwasser nach 2—4 Tagen die Fibrillen der Grundsubstanz isoliren, theilweise erst nach Druck auf das Deckglas.

30. Sublimat (und Chromsäure) wird von KÖLLIKER[14]) als geeignetes Macerationsmittel zur leichten Isolirung von Muskelfasern angegeben.

WALDEYER[09]) wendet verdünnte Sublimatlösung für die Isolation peripherischer Nerven von Wirbellosen an. Er legte kleine Gewebsstücke in eine 0,03%ige Lösung und zerzupfte sie dann. Einen rascheren und leichteren Zerfall erzielte er, wenn er die Stücke nur 24 Stunden lang der Einwirkung der Sublimatlösung oder einer Chromsäurelösung von 0,05 bis 0,06% unterwarf, dann aber in destillirtem Wasser weiter macerirte.

Später benutzte er[176]) eine Lösung von 0,05—0,1% zur Isolation pathologisch (beim Abdominaltyphus) veränderter Muskelfasern und fand sie namentlich brauchbar zur Unterscheidung zwischen viel oder wenig veränderten Fasern; er legte die Muskeln für 1—2 Tage ein.

E. SERTOLI[177]) benutzte eine 0,15%ige Sublimatlösung zur Isolation einzelner Zellen der Hodenkanälchen; er macerirte Stücke von menschlichen Hoden 3—5 Tage lang in dieser Lösung und alsdann einige Tage in destillirtem Wasser.

W. FELIX[31]) erzielte zur Trennung der Muskelfasern bei ganz dünnen Säugethiermuskeln und bei allen Froschmuskeln mit der gesättigten wässerigen Lösung (1 Theil Sublimat auf 16 Theile Wasser) bei 45—60° C glänzende Resultate. Bringt man Froschmuskeln (am besten in Verbindung mit dem Skelet) 5 Minuten lang in diese Lösung, so lassen sie sich sehr leicht zerzupfen, und man erhält meistens die Fasern in ganzer Länge. Längere Einwirkung verursacht an den Faserenden Zerfall in Fibrillen.

31. Alaunkarmin nach GRENACHER wird von A. DOGIEL[178]) zur Demonstration der Sehnenzellen vorgeschlagen. Er legt dünne Sehnenbündel vom Rattenschwanz in die Lösung für 2—3 Stunden, besser für 1 Tag, Wochen oder Monate ein. Jahrelanger Aufenthalt schadet nicht. Die Karminlösung muss von Zeit zu Zeit gewechselt werden und jedesmal ist ein Stück Kampher beizufügen. Zur Untersuchung schneidet man ein Stückchen Sehne ab, spült etwas in destillirtem Wasser ab und zerzupft in Glycerin. Die Sehnenzellen treten rosa auf den hellen Sehnenfasern hervor. In Glycerin verliert sich die Färbung nach geraumer Zeit. Man kann Sehnenstücke kurze Zeit in Alkohol, darauf in Nelkenöl bringen und dann erst zerzupfen; Einschluss in Balsam. Denselben Erfolg erzielt man, wenn man die Sehnen erst in Kali- oder Ammoniak-Alaun kürzere oder längere Zeit einlegt und nachträglich mit GRENACHER's Karmin oder Alaun-Hämatoxylin oder Hämatoxylin-Eosin etc. färbt. Nach SCHIEFFERDECKER[36]) kann man in der gleichen Weise auch marklose Nerven behandeln.

32. Schwefelsaures Eisenoxydul (Ferrosulfat) isolirt nach THIEM[99]) in 2,5 bis 5%iger Lösung nach 3—5tägiger Einwirkung die glatten Muskelfasern, die elastischen Fasern, die Bindegewebsfibrillen und die Fibrillen der quergestreiften Muskelfasern. Markhaltige Nervenfasern lassen sich nach 5tägiger Einwirkung einer 5%igen Lösung leicht isoliren; auf grosse Strecken sind dabei die Axencylinder blossgelegt. Die Färbung der Elemente ist sowohl durch saure als auch durch alkalische Farblösungen möglich. Schwefelsaures Eisenoxydul-Ammonium wirkt etwas milder.

33. Chlorruthenium von BERNARD[119]) sehr empfohlen für das Nervensystem der Prosobranchier in einer Lösung von orangegelber Farbe (1/4 Stunde lang) und für die Schleimdrüsen in koncentrirter, ziemlich hellrother Lösung.

34. Acetonchloroform (Chloretone) ist nach Randolph[179]) für niedere Thiere in schwachen Lösungen Anästheticum, in stärkeren, 0,01—0,05%igen Lösungen Macerationsmittel. Genaueres über die für die je nach dem Thier verschiedenen Koncentrationsgrade siehe im Original.

35. Methylalkohol 25—50%ig von Thin[180]) für die Isolation von Opticusfasern und Ganglienzellen der Retina (Schaf und Katze) empfohlen. Ganze Augen werden entweder 24 Stunden in ein Gemisch von Methylalkohol und Wasser zu gleichen Theilen oder 36 bis 48 Stunden in eine Mischung von 1 Vol. Methylalkohol und 2 oder 3 Vol. Wasser übertragen; ersteres ist besser für die Opticusfasern, letzteres für die Erhaltung der Ganglienzellenfortsätze. Die Präparate werden in Glycerin untersucht, können aber auch gefärbt (am besten durch wässerige Anilinblaulösung mit oder ohne Eosin) und in Balsam eingelegt werden. Die ganzen unpräparirten Augen können viele Monate aufbewahrt werden, wenn man sie nach der Maceration in Glycerin überträgt.

36. Methylmixtur, von Schiefferdecker[181]) namentlich für die Zellen des Nerven- und Stützgewebes der Retina angegeben, besteht aus 20 Vol. destillirtem Wasser, 10 Vol. Glycerin und 1 Vol. Methylalkohol. Sie ist am besten vor dem Gebrauche frisch herzustellen, sonst in gut verschlossenem Glase aufzubewahren. In ein mässiges Quantum wird die frische Retina für mehrere Tage hineingelegt; dann wird ein Stück in wenig Wasser in einem Reagenzglase geschüttelt und, wenn es zerfällt, in ein Uhrschälchen entleert; der Flüssigkeit fügt man 6—10 Tropfen Glycerin und etwa ebensoviel koncentrirte wässerige Lösung von pikrokarminsaurem Natron (von Dr. Witte, Rostock) zu, rührt ordentlich um und bringt das Uhrschälchen in einen Schwefelsäure-Exsiccator, bis das ganze Wasser verdunstet und nur das Glycerin übrig ist, in welchem die Elemente sich beliebig lange halten.

37. Alkohol (Aethylalkohol).

a) Drittel-Alkohol von Ranvier[148 u. 6]) empfohlen. Die Mischung besteht aus 1 Volum Alkohol von (36° Cartier =) 89% (Volum % Tralles) mit 2 Volumen destillirten Wassers und eignet sich namentlich für die meisten Epithelien (12—24 Stunden), ferner für Purkinje'sche Fäden (dünne Schicht von Endokard mit Muskulatur für 1 Tag eingelegt), Ganglienzellen (1 bis 2 Wochen), Linsenfasern. Für das Riechepithel ist es besser[6]), die Stücke eine Stunde in Drittel-Alkohol, dann auf 5 Minuten in eine 1%ige Osmiumsäurelösung und schliesslich in Wasser zu bringen. Die Ganglienzellen des Rückenmarkes isolirt man am vollständigsten durch eine ähnlich kombinirte Methode. Ein Schnitt des Rückenmarkes vom Ochsen von 2—3 Mm. Dicke wird in 8—10 Ccm. Drittel Alkohol eingelegt. Nach 24—48 Stunden hebt man kleine Stücke der Vorderhörner heraus und schüttelt sie mit destillirtem Wasser heftig im Reagenzglas. Dann setzt man einige Tropfen Pikrokarminlösung bis zur Rosafärbung des Wassers zu und nach einer Stunde noch etwas 1%ige Osmiumsäurelösung, z. B. 1 Ccm. Nach einigen Stunden wäscht man mit Wasser aus und kann in Glycerinleim einschliessen. Die in Drittel-Alkohol isolirten Elemente können in 1%iger Pikrokarminlösung gefärbt und in Glycerin aufgehoben werden. Zur Untersuchung von Blutgefässen in Membranen benutzt Ranvier[148]) eine Mischung von 1 Theil Alkohol und 2 Theilen 1%iger Kochsalzlösung, in welcher das Epithel sich ablöst und die Granulationen des Protoplasmas und der rothen Blutkörperchen erhalten bleiben. Dann wird mit Pikrokarmin gefärbt, in destillirtem Wasser ausgewaschen und in einer 1%igen Karbolsäure aufgehoben. Auch Goldfärbung ist möglich mit Goldchloridkalium 1:10.000. List[117]) empfiehlt Drittel-Alkohol nur für Maceration geschichteter Epithelien (1 bis mehrere Tage lang), nicht für Drüsenzellen. J. Dogiel[182]) benutzt zu Untersuchungen über den pupillenerweiternden Muskel der Säugethiere und Vögel 30%igen Alkohol oder ½%ige Essigsäurelösung, oder ein Gemenge von 2 Theilen 30%igen Alkohols und 1 Theil ½%iger Essigsäurelösung. Er legt vordere Augenhälften auf einige Tage in eine dieser Lösungen und isolirt die Iris, welche sich dann besonders bei den Vögeln leicht in eine vordere und hintere Platte zerlegen lässt. Dann färbt man. Rawitz[115]) hat am Nervensystem von Evertebraten nur während der ersten Tage brauchbare Bilder erhalten. Nansen[171]) benutzt zur Maceration auch Drittel- bis Sechstel-Alkohol und findet dünnere Lösungen besser. Maceration Tage oder Wochen lang, Färbung

24 Stunden lang in Ammoniakkarmin verdünnt mit dem gleichen Volumen der Macerationsflüssigkeit; Zerzupfen in Glycerin. EWALD[3]) benutzt für Schleimhautepithelien, namentlich auch für Darmepithelien nach Fettfütterung Drittel-Alkohol 24 Stunden lang. Dann schüttelt er, hebert ab (siehe Einleitung zum Artikel Maceration), fixirt in $^1/_2$%iger Osmiumsäurelösung, wäscht mehrfach mit Wasser aus, färbt eventuell mit Alaun- oder Pikrokarmin, hebt in 50%igem Alkohol auf und legt in Glycerinleim ein. Für Flimmerzellen findet er MÜLLER'sche Lösung besser als Drittel-Alkohol. Für die Färbung ist auch das bei Artikel Methylmixtur angegebene SCHIEFFERDECKER'sche Verfahren gut anwendbar. KAPELKIN[183]) fixirt die Haut von Petromyzon in Sublimat oder Sublimatplatinchlorid oder 70%igem Alkohol mit Jod, macerirt sie in Drittel-Alkohol oder MÜLLER'scher Lösung und imprägnirt sie mit Silber (frisch mit $^1/_2$%iger Lösung von Höllenstein; oder nach GOLGI) oder mit Gold (nach RANVIER). Färbung in toto oder der Schnitte wie gebräuchlich. HOEHL[10]) macerirt Organstücke (Lymphknoten, Thymus, Leber, Milz etc.) theils direkt, theils nach 48stündigem Auswaschen in fliessendem Wasser mit Drittel-Alkohol und schüttelt sie darin aus, um das Retikulum möglichst vollständig von den anhaftenden Zellen zu befreien.

b) Viertel-Alkohol nach RAWITZ[115]), für das Studium des Nervensystems der Evertebraten empfohlen, aber auch für Isolation von Epithelien geeignet. Man mischt 1 Theil absoluten Alkohol mit 3 Theilen destillirten Wassers. Diese Mischung erhält die Theile vollkommen, ermöglicht schon nach 48 Stunden die leichte Isolation der Ganglienzellen und Nervenfasern, giebt aber noch nach 4—5 Wochen (bei Wechsel der Flüssigkeit alle 5—6 Tage) vollkommen brauchbare und einwurfsfreie Bilder.

c) Sechstel-Alkohol nach SOLBRIG[184]) wird bereitet aus 1 Theil käuflichen Weingeist und 5 Theilen destillirten Wassers. Schon nach 24 Stunden ist eine ausgiebige Isolation möglich. Besonders für das Nervensystem wirbelloser Thiere zu empfehlen. Wird von RAWITZ (s. oben) sehr gelobt. Siehe ausserdem auch bei: Kochsalz.

38. Formol (40%ige wässerige Lösung von Formaldehyd) für Darstellung der Linsenfasern von GEBHARDT[185]) angegeben. Ganze Bulbi kommen für 1—2 Tage (oder länger) in 4—10%ige Lösung von Formol und darauf für einige Stunden in 50—60%igen Alkohol. Dann nimmt man die Linse aus dem Auge, fasst sie am Aequator zwischen zwei Finger und zersprengt sie durch Zusammendrücken in Lamellen. Diese zerzupft man in Wasser oder Glycerin und isolirt leicht die Fasern, gezähnte und ungezähnte, der ganzen Länge nach. Man kann (ohne Färbung) in Glyceringelatine einschliessen. GAGE[2]) benutzt eine Lösung von 2 Ccm. Formol auf 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Für viele Epithelien 1—2 Stunden, etwas länger schadet nicht. Besonders günstig für die Flimmerzellen der Hirnhöhlen und die Ganglienzellen des Gehirns und Rückenmarks, 2—24 Stunden lang. Man überträgt ein Stück Gewebe dann in eine Mischung von 1 Theil Eosin auf 1000 Theile Formol-Macerationsflüssigkeit und untersucht in Glycerin (versetzt mit $^1/_{10}$% Eosin). Man kann auch färben mit folgender Mischung: Glycerin 85 Ccm., Alaunkarmin 7,5 Ccm., Eosin (0,5%ige wässerige Lösung) 7,5 Ccm. Dann Einschluss mit Schellack oder dergl. RUTHERFORD[186]) legt quergestreifte Muskeln in das dreissigfache Volumen von 4%iger Formaldehydlösung (1 Vol. Formol auf 9 Vol. Wasser) für 48 Stunden, überträgt sie in reinen Methylalkohol für 48 Stunden, wechselt dann diesen und lässt die Stücke bis zur Untersuchung darin. Die Fasern können mit Nadeln isolirt werden, am besten, wenn 50%iger oder unverdünnter Eisessig zugesetzt wird. Man färbt am besten nach kurzem Auswaschen in Wasser mit einer wässerigen Lösung von Heliocine, wäscht dann wieder in Wasser aus und legt in Glycerin ein oder in Balsam.

39. Chloralhydrat wurde in Lösung zuerst von BUTZKE[187]) für die Isolation der Ganglien- und Neurogliazellen der Grosshirnrinde benutzt. Er wandte 10—50%ige wässerige Lösungen auf das frische Hirn an und schüttelte dann vorsichtig oder wusch die Masse zwischen den Zellen aus. Besonders gut fand er auch für diesen Zweck erst 1/4%ige Osmiumsäure und dann Chloralhydrat anzuwenden. ANDRÉ[188]) lobt Chloralhydrat für Nervenfasern und quergestreifte Muskelfasern, besonders aber für die Retina. Er benutzt entweder ein Gemisch von Wasser 30 Grm. und Chloralhydrat 4 Grm. oder von Wasser 30 Grm., Chloralhydrat 4 Grm. und Glycerin 16 Grm. und legt die mit Karmin gefärbte Retina für einige Stunden in die Mischung. Die Kontouren der Nervenelemente werden deutlicher und scheinen etwas zu schrumpfen, die MÜLLER'schen Radialfasern werden sehr deutlich, besonders bei den Batrachiern. Dann färbt er mit Anilinroth oder mit: Anilinblau 0,01 Grm., Alkohol 0,5 Grm. und Wasser 20 Grm. R. HEIDENHAIN[189]) empfahl die 5%ige Chloralhydratlösung sehr für die Isolation aller zelligen Gebilde des Pankreas; die Lösung muss bei längerer Einwirkung öfters erneuert werden. LAVDOWSKY[168]) fand die 5%ige Chloralhydratlösung sehr geeignet zur Isolation der glatten Muskelfasern, besonders in den Drüsen, Milz, Lungen u. s. w., etwas schwerer in der Muscularis des Darmes. Kleine Stücke des frischen Organes werden für 20 bis 40 Stunden in eine möglichst grosse Quantität der Lösung eingelegt und in ihr zerzupft. Nach KRAUSE[175]) übertrifft die 10%ige wässerige Chloralhydratlösung bei mehrtägiger Einwirkung zur Konservirung der Retinaelemente in mancher Beziehung die Osmiumsäure, besonders für die Aussenglieder, die Radialfasern, die Ganglienzellenfortsätze. Die Elemente können dann durch Zerzupfen isolirt werden. TRINKLER[160]) erhielt für die Maceration des Epithels und der Drüsenelemente des Magens ausgezeichnete Resultate mit einer Mischung von 1 Vol. 0,02%ige Chromsäure, 1 Vol. 5%iges Chloralhydrat und einigen Tropfen Essigsäure. HICKSON[5]) legt Augen und N. opticus von Musca vomitoria für 24 Stunden in 5%ige wässerige Chloralhydratlösung, zerzupft dann und legt in Glycerin ein. GIERKE[170]) findet, dass das BUTZKE'sche Gemisch (s. oben) für die Darstellung der nervösen Elemente manche Vortheile bietet, nicht aber für die Isolirung der Stützsubstanz.

40. Essigsäure wurde von DONDERS[24]) in den Wirkungen verschiedener Koncentrationsgrade auf die verschiedenen Gewebe geprüft. Er untersuchte genauer ihre aufquellende Wirkung auf das Bindegewebe und rühmt sie besonders als gutes Mittel, um Nervenfasern zu erkennen. Eigentlich macerirende Eigenschaften beobachtete er nicht. MOLESCHOTT[25]) empfiehlt für die Isolation von glatten Muskelfasern bei Geweben, welche vorwiegend aus glatten Muskelfasern bestehen, ein Gemisch von 1 Vol. starke Essigsäure (spec. Gew. 1,07) und 99 Vol. destillirten Wassers und lässt es 5—10 Min. bei ca. 20° C einwirken. Am besten gelingt die Maceration, wenn die von Schleimhaut und Serosa frei präparirte Darmmuscularis erst einen Tag lang vor Vertrocknung geschützt aufbewahrt wird. Für Organe mit wenig Muskelfasern (Arterien, Lungen) nimmt er 1,5%ige Essigsäure. Zur Aufbewahrung benutzte er seine Alkohol-Essigsäuregemische (starkes und schwaches). Die von BALOGH[190]) für die Isolirung der Riechzellen u. s. w. empfohlene Mischung: 1 Vol. Essigsäure, 1 Vol. Alkohol und 2 Vol. destillirten Wassers (nach MOLESCHOTT) ist nach M. SCHULTZE[1]) für diesen Zweck weniger als die meisten der sonst von ihm angewandten Mittel anzuempfehlen. KRAUSE[175]) brachte die überlebende Kornea für 24 Stunden in 3%ige Essigsäure und isolirte so ihre Epithelzellen. BROESIKE[20]) benutzte ein Gemisch von Eisessig, Glycerin und Wasser zu gleichen Theilen, in welchem er die nach ALTMANN's Methode mit Oel imprägnirten, dann entkalkten und osmirten Knochenstücke 1/4—1/2 Stunde auf dem Sandbade kochte, zur Isolation der Grenzscheiden der Knochenkanälchen. Genaueres siehe im Original.

PHILIPPSON[13]) erzielt eine vollständige Ablösung der Epidermis von der Cutis dadurch, dass er die Hautstücke 1—3 Tage lang in 1/4—1/3%ige Essigsäurelösungen (mit einigen Tropfen Chloroform versetzt) einlegt. Ebenso wirkt Ameisensäure, Oxalsäure, Citronensäure. MAYER[191]) empfiehlt Essigsäuredämpfe, um das Epithel dünner Membranen (Nickhaut und Hornhaut von Rana und Bufo, Hornhaut von Ratten und Mäusen) im ganzen und sehr gut erhalten abzulösen. Er bringt z. B. die Nickhaut, nur mit einer Spur 0,5%iger Kochsalzlösung befeuchtet, auf den Objektträger und legt letzteren für höchstens 1 Minute über die Oeffnung eines kleinen, zur Hälfte mit Eisessig gefüllten Gläschens. Nachdem die vorher durchsichtigen Häutchen sich getrübt haben, wird etwas 0,5%ige Kochsalzlösung zugesetzt und man kann die Epithelschicht durch einfaches drückendes Streichen mit einer Nadel als Häutchen ablösen. Bestes Objekt für Kurspräparate von der Karyokinese. Einlegen der Froschhaut in 1/2- bis 1%ige Essigsäure für 1—2 Minuten führt ebenfalls zur Ablösung der Epidermis, doch scheint der Erhaltungszustand der Mitosen nicht so gut zu sein wie bei der ersten Methode. RAUSCH[128]) findet auch reine Essigsäure (1—2 Tage bei Körpertemperatur)

für die Isolation der Hornzellen der menschlichen Epidermis geeignet. Ueber Färbung siehe bei Wasserstoffsuperoxyd.

41. *a)* Eisessig-Glycerinwasser (HALLER's Gemisch) wurde von HALLER[192]) angegeben zur Isolirung des Sinnesepithels von Mollusken in der Form: Koncentrirte Essigsäure 0,4, Glycerin 0,4, destillirtes Wasser 1,2; Dauer der Einwirkung 1/2 Stunde oder länger. Später[193]) in der Form: Eisessig 0,5, Glycerin 0,5, destillirtes Wasser 2,0; Dauer der Einwirkung 1/2 bis 3/4 Stunden. NANSEN[194]) lobt das Gemisch (2. Form). Er zerzupft dann in 50%igem Glycerin und färbt eventuell (nach vorhergegangenem Auswaschen) in Ammoniakkarmin, Pikrokarmin oder in verdünntem Hämatoxylin (nach DELAFIELD). RAWITZ[115]) fand dagegen das Gemisch für das Acephalengehirn unbrauchbar. SIHLER[195, 196 u. 197]) verwendet ein ähnliches Gemisch für eine leichte und sichere Methode zum Nachweis der motorischen und sensiblen Nervenendigungen an Muskelfasern und Gefässen. Frische Muskelbündel (höchstens gänsekieldick) werden auf ca. 18 Stunden eingelegt in etwa das 10fache Volumen eines Gemisches aus gewöhnlicher Essigsäure 1 Vol., Glycerin 1 Vol. und 1%ige Lösung (in destillirtem Wasser) von Chloralhydrat 6 Vol. Darauf kommen sie für 1—2 Stunden in Glycerin, werden dann weiter zerzupft (bis auf Stecknadeldicke) und auf 3—10 Tage übertragen in die Farblösung aus EHRLICH'schem Hämatoxylin (nicht zu frisch) 1 Vol., Glycerin 1 Vol., Chloralhydratlösung (wie oben) 6 Vol. Die Präparate werden dann in Glycerin aufbewahrt. Für die Untersuchung zerzupft man vorsichtig weiter und behandelt sie mit Essigsäure oder Essigsäureglycerin, bis die dunkelblaue Farbe in violett umgewandelt ist. Die Methode ist auch für Herz und glatte Muskelfasern brauchbar. Die Stärke der Macerationsflüssigkeit muss je nach dem Thier variirt werden. Das Chloralhydrat kann mit gewissen Vortheilen durch Sublimat ersetzt werden. Weitere Einzelheiten in den Originalarbeiten. BATTEN[198]) findet die Methode von SIHLER als beste für die Muskelspindeln unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Die Spindeln können nach der Maceration und Isolation in MÜLLER'sche Lösung eingelegt werden, bis alle Farbe aus ihnen verschwunden ist, dann in MARCHI's Lösung übertragen, in Celloidin eingebettet, geschnitten und nach PAL gefärbt werden. So sind auch die geringsten Degenerationen erkennbar. BRISTOL[56]) benutzte es mit Erfolg für Macerationen zum Studium der makroskopischen Verhältnisse der Nerven von Nephelis. Er schnitt z. B. den Kopf ab, spaltete ihn dann an der ventralen und dorsalen Seite, breitete die Stücke zwischen Gläsern flach aus und legte sie für 2 Tage ein. Dann Glycerin. HEMENWAY[199]) macerirt die Augen von Scutigera in einem ähnlichen Gemisch (1 Theil Glycerin, je 2 Theile Essigsäure und Wasser) 1 Jahr lang.

b) Eisessig 1—2 Theile und Methylgrün, koncentrirte wässerige Lösung, 100 Theile, wird von CARNOY[7]) für »verwickelte Gewebselemente« empfohlen; er lässt das Gemisch 12 bis 24 Stunden kalt oder 2—3 Minuten bei 70° C einwirken.

42. Holzessig wurde zuerst von PURKINJE empfohlen und ist in den folgenden Jahrzehnten sehr viel, später weniger gebraucht worden. Man wandte besonders den gereinigten (rektificirten) Holzessig mit dem gleichen bis vierfachen Volumen Wasser verdünnt an und liess die Objekte Tage bis Monate darin liegen. Da er das Bindegewebe ausserordentlich durchsichtig macht, wurde er namentlich zur Darstellung der im Bindegewebe eingelagerten Theile: Drüsen, Gefässe, Muskelfasern, Nerven, pathologische Neubildungen benutzt. G. MEISSNER[200]) und andere nach ihm untersuchten damit den submucösen Plexus des Darmes (s. auch BLASCHKO[201]). FRANKENHÄUSER[109]) benutzte den Holzessig ausser zur Darstellung der Uterusnerven auch bei tagelanger Einwirkung zur Isolation der glatten Muskelfasern, wie ihn zuerst BILLROTH für diesen Zweck empfohlen haben soll. Ueber die Anwendung des Holzessigs durch STILLING (1880) für die Zerfaserung von Gehirntheilen siehe bei MÜLLER'sche Lösung.

In neuerer Zeit benutzte LOEWY[02]) eine 6%ige Holzessiglösung zur Maceration der Epidermis und erhielt damit nach 24—48stündiger Einwirkung bei 40° C stets eine sichere Ablösung der Epidermis von der Cutis.

An haarreichen Stellen waren dabei die langen und dichtstehenden Haare vorher abrasirt. Für die zartesten Gewebe, wie für die Epidermis der weiblichen Geschlechtsorgane, wurde auf eine dünnere Lösung, bis auf 1%, heruntergegangen. Das Verfahren bietet ebensoviel, wie die PHILLIPPSON'sche Essigsäuremethode (s. diese). Auch RAUSCH[128]) empfiehlt reinen Holzessig (1—2 Tage bei Körpertemperatur) als gutes Macerationsmittel für die Hornzellen des Stratum corneum der menschlichen Epidermis und als sehr geeignet zur Darstellung ihres Reliefs. Ueber Färbung derselben siehe bei: Wasserstoffsuperoxyd. SCHIEFFERDECKER[36]) erklärt den Holzessig (verdünnt, s. oben) namentlich auch jetzt noch brauchbar für quergestreifte Muskeln und deren Sehnen, sowie für den Zusammenhang beider, für marklose Nervenfasern und für die Maceration des Darmes, um die sympathischen Geflechte desselben darzustellen. Die Präparate färben sich braun, doch schadet das nichts, sondern nutzt eher als Färbung. Nach BLASCHKO (s. oben) kann man Dauerpräparate von dem Darmplexus herstellen, wenn man erst in wässeriger Pikrinsäurelösung härtet und dann in Holzessig macerirt.

43. Oxalsäure, kalt gesättigte wässerige Lösung, wurde zuerst von M. SCHULTZE[1]) für die Isolation der Riechzellen und Olfactoriusfasern mit grossem Erfolg angewandt. Die Zeit der Einwirkung ist von wenig Bedeutung: wenige Stunden bis Tage. Für kaltblütige Thiere kann die gesättigte Lösung mit dem gleichen Volumen destillirten Wassers verdünnt werden. In der Retina werden die Stäbchen ebenfalls ausgezeichnet erhalten, während die Stützfasern bis zum Verschwinden abblassen. Stärkere Erhärtung der Präparate wird mit alkoholischen Oxalsäurelösungen erzielt. Siehe ausserdem auch bei: Jodserum. BROESIKE[20]) konnte mit Oxalsäure in stärkerer Koncentration die Grenzscheiden der Knochenkanälchen darstellen.

44. Sulfocyan-(Rhodan-) Ammonium, -Kalium ist nach STIRLING[203]) in 10%iger Lösung ein vorzügliches Mittel zur Isolirung von Epithelzellen (Oesophagus, Magen, Darm, Harnblase, Haut etc. von Rana und Triton). Man legt kleine Stücke für 24—28 Stunden ein. Man kann in Pikrokarmin färben, wenn man vorher gut in Wasser auswäscht. SOULIER[204]) findet an der Epidermis der von ihm untersuchten Thiere, dass das Gemisch die Zellen stark verändert. Er erzielt dagegen gute Erfolge durch Vermischung mit einem Fixirmittel: Gemisch von RIPART und PETIT, Sublimat, FOL'sche Lösung, MÜLLER'sche Lösung, Osmiumsäure u. s. w. Bei Verwendung der Flüssigkeit von RIPART und PETIT erhält man wirksame Gemische durch Zusatz von 5%igen Rhodansalzlösungen im Verhältniss 1:1—39. Umgekehrt kann man zweckmässig die Flüssigkeit von RIPART und PETIT auch mit anderen Macerationsmitteln (Jodserum, KRONECKER's künstlichem Serum, Eau de Javelle, 10%igem Natriumsulfat etc.) kombiniren.

45. *a)* Pikrinsäure nach RAWITZ[115, 111]) 5—10 Tropfen einer kalt gesättigten wässerigen Pikrinsäurelösung werden mit 15 Ccm. destillirten Wassers verdünnt. Nach 12—24 Stunden erhält man vom Nervensystem wirbelloser Thiere vorzügliche Präparate. Bei kürzerer Einwirkungsdauer (4—8 Stunden) erhält man sehr gute Isolationen von Epithel- und Drüsenzellen. Zerzupft wird in destillirtem Wasser.

b) Pikrinsäurealkohol nach GAGE[205]) und HOPKINS[208]) besteht aus 250 Grm. 95%igem Alkohol, 750 Grm. Wasser und 1 Grm. Pikrinsäure. Gewebe für wenige Stunden einlegen; zu lange Einwirkung ist schädlich. Es ist ein ausgezeichnetes Macerationsmittel für fast alle Gewebe, besonders für Epithelien, glatte und quergestreifte Muskelfasern, deren Struktur sehr deutlich bleibt. Einlegen in Glycerin oder in Glycerinleim.

c) Pikrokarminsaures Ammoniak in 1%iger Lösung wird von RANVIER[6]) zur Isolirung des Axencylinders empfohlen. Man zerzupft frische Nerven in der Flüssigkeit und lässt sie 24 Stunden darin liegen. Dann ist das Mark grösstentheils ausgetreten und die Axencylinder sind nur von der SCHWANN'schen Scheide umgeben oder auch ganz frei.

46. Lysol ist nach REINKE[206]) für manche Gewebselemente (Haare, Epithelzellen vom Salamander, Drüsenzellen, Flimmerzellen, quergestreifte Muskelfasern) ein gutes Macerationsmittel. An den Kernen vom Salamanderepithel werden eigenthümlich gekrümmte Fäden sichtbar u. s. w. REINKE verwendet hauptsächlich 10%ige Lösung in destillirtem Wasser, jedoch auch ein Gemisch von: Lysol 10 Vol., destillirtem Wasser 60 Vol. und absolutem Alkohol 30 Vol. oder Lysol 10 Vol., destillirtem Wasser 50 Vol., Alkohol 30 Vol. und Glycerin 10 Vol.

47. Salicylsäure wird von A. Froriep[207]) zum Auflösen des Bindegewebes und Sarkolemms im quergestreiften Muskel und zur Isolation der Muskelfasern empfohlen. Der Muskel wird aufgespannt einige Tage in starken Alkohol, welcher $2^1/_2$% krystallinische Salicylsäure enthält, eingelegt, alsdann 1—2 Stunden in 1%iger wässeriger Salicylsäurelösung gekocht und schliesslich noch für einige Tage in kaltgesättigte wässerige Salicylsäurelösung übertragen. Die Muskelbündel zerfallen bei sanfter Berührung in die einzelnen Fasern, welche in ganzer Länge erhalten werden. Die Methode ist für menschliches Material geeignet und wird auch von W. Felix[31]) gerühmt.

Engelmann[120]) macerirte mit koncentrirter Salicylsäurelösung die Flimmerzellen von Anodonta und konnte damit, innerhalb der ersten Stunde untersucht, den Faserapparat der Zellen in seiner Lage gut sichtbar machen.

Rausch[128]) macerirte menschliche Fusssohlenhaut mit gesättigter wässeriger Salicylsäurelösung, welche zur besseren Löslichkeit der Salicylsäure mit etwas Alkohol versetzt war, während 1—2 Tagen bei Körpertemperatur. Er fand in ihr das beste Mittel, das Relief der isolirten Hornzellen gut erhalten zur Darstellung zu bringen. Färbung der Zellen siehe bei: Wasserstoffsuperoxyd.

48. Salicylsaures Natron in gesättigter Lösung ist nach Rausch[128]) ein gutes Macerationsmittel für Isolirung der Hornzellen des Stratum corneum der menschlichen Epidermis. Einwirkung: 1—2 Tage bei Körpertemperatur. Ueber nachträgliche Färbung siehe bei: Wasserstoffsuperoxyd.

49. Gerbsäure wird von Motta-Coco und Ferlito[209]) zur Maceration von Muskeln vom Frosch empfohlen und giebt in 0,5—1,5%iger Lösung brillante Resultate, die besten in der stärkeren Koncentration, namentlich über das Verhältniss zwischen Muskel und Sehne. Man legt den Gastrocnemius für 24—48 Stunden ein und kann zum Schluss färben.

50. Galle (oder taurocholsaures Natron) und Chlorcalcium wird von Miescher (Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 37, abgedruckt in D. histochem. u. physiol. Arbeiten v. F. Miescher, Bd. 2, 1897, pag. 408) als ein vortreffliches Mittel zur vollständigen und sicheren Isolirung der Kerne der Hodenzellen angegeben, das auch bei anderen Geweben anwendbar ist. Man behandelt die Organe mit einer Lösung, welche 0,25—0,30% krystallisirte Galle und 0,8—1,0% Chlorcalcium enthält. Sie löst das Protoplasma vollkommen auf, während die Kerne erhalten bleiben. Für mikroskopische Untersuchung nimmt man $^1/_{10}$ koncentrirte Lösung von schwefelsaurem Natron, welche Galle und Chlorcalcium enthält. Man kann dann centrifugiren und öfters auswaschen. Weiteres siehe im Original. Zacharias (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch., Bd. 16, 1898, pag. 186 Anm.) wandte die Methode auf pflanzliche Gewebe an, erhielt aber keine entsprechenden Resultate.

Litteratur: [1]) M. Schultze (Abh. nat. Ges. Halle, Bd. 7, 1862), [2]) Gage (Trans. Amer. Micr. Soc., Bd. 19, 1897), [3]) A. Ewald (Zeit. Biol., Bd. 34, 1896), [4]) Pokrowski (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), [5]) Hickson (Quart. journ. micr. Sc., II. Ser., Bd. 25, 1885), [6]) Ranvier (Technisches Lehrbuch), [7]) Carnoy (La biologie cellulaire 1884), [8]) Waldeyer (Virchow-Hirsch f. 1872), [9]) Schwann (cit. Kölliker, Handbuch der Gewebelehre, 5. Aufl., 1867), [10]) Hoehl (Arch. Anat., 1897), [11]) R. Heidenhain (Stud. phys. Inst. Breslau, Heft 2, 1863), [12]) Sudakewitsch (Ref. Hoffmann-Schwalbe, Bd. 11, 1882), [13]) Philippson (Mon. prakt. Derm., Bd. 8, 1889), [14]) Kölliker (Mikroskopische Anatomie, Bd. 2, 1850), [15]) Muys und Home (cit. Hildebrandt. Handbuch der Anatomie, 4. Aufl., Bd. 1, 1833), [16]) Rollett (Sitz. Ak. Wiss. Wien, 1856), [17]) Kühne (Ueber die peripherischen Endorgane der motorischen Nerven, Leipzig 1862), [18]) Felix (Zeit. wiss. Zool., Bd. 48, 1889), [19]) Hoppe (Virch. Arch., Bd. 5, 1853), [20]) Brösike (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1882), [21]) Morawitz (Arch. mikr. Anat., Bd. 60, 1902), [22]) Böhm-Davidoff (Lehrbuch der Histologie, 1895), [23]) Behrens (Tabellen), [24]) Donders (Holländ. Beitr., Bd. 1, 1848), [25]) Moleschott (Unters. Naturl. Mensch., Bd. 6, 1859), [26]) Weismann (Zeit. rat. Med., 3. Reihe, Bd. 10, 1860), [27]) Eberth (Centr. med. Wiss., Bd. 3, 1865), [28]) Aeby (ebenda), [29]) Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 4, 1868), [30]) Thin (Quart. Journ. micr. Sc., Bd. 16, 1876), [31]) Felix (Festsch. f. Kölliker, 1887), [32]) van Gehuchten (Cellule, Bd. 2, 1887), [33]) A. Ewald (Zeit. Biol., Bd. 26, 1890), [34]) Mall (Abh. kgl. sächs. Ges. Wiss., Bd. 17, 1891 und Johns Hopkins Hosp. Rep., Bd. 1), [35]) v. Ebner (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 109, 1900), [36]) Schiefferdecker (Behrens, Kossel und Schiefferdecker, Das Mikroskop), [37]) Böhm und Oppel (Taschenbuch), [38]) Gage (Proc. Amer. Soc. Micr., 1889), [39]) Born (Inaug.-Diss., Berlin 1873), [40]) Gage (The Microscope, Bd. 8, 1888), [41]) Zimmermann (Das Mikroskop, 1895), [42]) Waldeyer (Festschr. f. Henle, 1884), [43]) Waldeyer (Atlas der menschlichen und thierischen Haare, 1884), [44]) Nathusius (Zool. Anz., Jahrg. 15, 1892), [45]) Richter (Oest. bot. Zeit., Bd. 50, 1900), [46]) Förster (Virch. Arch., Bd. 18,

1860), [47]) Neumann (Beitr. zur Kenntniss des normalen Zahnbein- und Knochengewebes, Leipzig, 1863), [48]) W. Krause (Zeit. rat. Med., 3. Reihe, Bd. 20, 1863), [49]) R. Heidenhain (Arch. mikr. Anat., Bd. 10, 1874), [50]) Kuhnt (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1877), [51]) Paulsen (Inaug.-Diss. Dorpat 1848), [52]) Reichert (Arch. Anat., 1849), [53]) Langerhans (Arch. mikr. Anat., Bd. 12, 1876), [54]) Schwalbe (Jena. Zeit. Nat., Bd. 13, 1879), [55]) Bristol (Journ. Morph., Bd. 15, 1898), [56]) P. Schultz (Arch. Phys., 1895), [57]) Metalnikoff (Zeit. wiss. Zool., Bd. 68, 1900), [58]) Mitrophanow (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [59]) Marcacci (Arch. ital. Biol., Bd. 4, 1883), [60]) Hendrickson (Johns Hopkins' Hosp. Bull. 1898), [61]) Freud (Centr. med. Wiss., Bd. 17, 1879), [62]) Mac Callum (Contributions to the science of medecine, dedicated by his pupils to W. H. Welch. Baltimore 1900), [63]) Apáthy (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), [64]) Franz Schulze (Flora 1850, Bot. Zeit. 1850, Beitrag zur Kenntniss des Lignins, Rostock 1856 und Lehrbuch der Chemie für Landwirthe, Bd. 2, 1860), [65]) Strasburger (Gr. bot. Pract., 3. Aufl., 1897), [66]) Budge (Arch. phys. Heilk., N. F., Bd. 2, 1858), [67]) Uechtritz (Inaug.-Diss., Greifswald 1858), [68]) v. Wittich (Königsberg. med. Jahrb., Bd 3, 1861), [69]) Waldeyer (Zeit. rat. Med., 3. Reihe, Bd. 20, 1863), [70]) v. Ebner (Unters. Inst. Phys. Hist. Graz, Heft 1, 1870), [71]) Fubini (Unters. Naturl., Bd. 11, 1876), [72]) Stöhr (Lehrb. der Histologie, 9. Aufl., 1901), [73]) R. Virchow (Würzburg. Verh., Bd. 1, 1850 u. Bd. 2, 1851), [74]) Schweigger-Seidel (Die Niere des Menschen und der Säuger, Halle 1865), [75]) Rollett (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 30, 1858), [76]) Henle (Abh. Ges. Wiss. Göttingen, Bd. 10, 1862), [77]) Aeby (Zeit. rat. Med., 3. Reihe, Bd. 14, 1862), [78]) Kölliker (Handbuch der Gewebelehre, 5. Aufl., 1867), [79]) v. Mihalkovics (Abh. phys. Anst. Leipzig, 8. Jahrg., 1873), [80]) Königstein (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 73, 1875), [81]) Moriggia (cit. Fubini, Unters. Naturl. Mensch., Bd. 11, 1876), [82]) Henle (Allgemeine Anatomie, 1841), [83]) Freud (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 78, 1879), [84]) Kraus (ebenda), [85]) Danilewsky (Zeit. physiol. Chemie, Bd. 7, 1883), [86]) Mörner (Skand. Arch. Phys., Bd. 1, 1889). [87]) Renaut (Traité, Bd. 1), [88]) C. Ludwig und Zawarykin (Ber. Ak. Wiss Wien, Bd. 48, 1863 und Zeit. rat. Med., 3. Reihe, Bd. 20, 1863), [89]) Tomsa (Ber. Ak. Wiss. Wien, Bd. 51, 1865), [90]) Mangin (Compt. rend., Bd. 110, 1890), [91]) Schlüter (Inaug.-Diss., Breslau 1865, und Henle und Meissner's Jahresber. f. 1865), [92]) Patten (Mitth. zool. St. Neapel, Bd. 6, 1886), [93]) Sappey (Traité d'anatomie générale, 1894), [94]) Odenius (Arch. mikr. Anat., Bd. 2, 1866), [95]) A. Fischer (Ber. dtsch. bot. Ges., 1886), [96]) Kühne (Stricker's Handbuch der Lehre von den Geweben, Bd. 1, Leipzig 1871), [97]) Sandmann (Arch. Phys., 1895), [98]) Klebs (Virch. Arch., Bd. 32, 1865), [99]) Thiem (Inaug.-Diss., Greifswald 1876), [100]) Golgi (Att. R. Acc. Lincei, Ser. 4, Bd. 5, 1889), [101]) Hannover (Arch. Anat., 1840), [102]) Weigert (Ergeb. Anat., Bd. 5, 1895), [103]) M. Schultze (Mon. kgl. Preuss. Ak. Wiss., 1856), [104]) Buchholz (Arch. Anat., 1863), [105]) Pflüger (Centr. med. Wiss., 3. Jahrg., 1865), [106]) Deiters (Unters. über Gehirn und Rückenmark, Braunschweig, 1865), [107]) Arnold (Virch. Arch., Bd. 32, 1865), [108]) Arnold (Virch. Arch., Bd. 41, 1867), [109]) Frankenhäuser (Die Nerven der Gebärmutter und ihre Endigung in den glatten Muskelfasern, Jena 1867), [110]) Schwalbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 4, 1868), [111]) Rawitz (Leitfaden), [112]) Boll (Arch. mikr. Anat., Bd. 4, 1868), [113]) Gottstein (Arch. mikr. Anat., Bd. 8, 1872), [114]) Schwalbe (Zeitschr. Anat., Bd. 2, 1877), [115]) Rawitz (Jena. Zeit. Nat., Bd. 20, 1887), [116]) Kölliker (Handbuch der Gewebelehre, 6. Aufl., 1889), [117]) List (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), [118]) P. Mayer (Mitth. zool. St. Neapel, Bd. 8, 1888), [119]) Bernard (Ann. sc. nat. Zool., 7. Ser., Bd. 9, 1890), [120]) Engelmann (Pflüger's Arch., Bd. 23, 1880), [121]) M. Schultze (Arch. mikr. Anat., Bd. 2, 1866), [122]) derselbe (ebenda, Bd. 7, 1871), [123]) Neumann (Arch. Heil., Bd. 9, 1868 und Arch. mikr. Anat., Bd. 18, 1880), [124]) Rindfleisch (Arch. mikr. Anat., Bd. 8, 1872), [125]) Dogiel (ebenda, Bd. 22, 1883), [126]) derselbe (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 1, 1884), [127]) Prenant (ebenda, Bd. 4 u. 9, 1887 u. 92), [128]) Rausch (Mon. prakt. Derm., Bd. 24, 1897), [129]) O. u. R. Hertwig (Das Nervensystem und die Sinnesorgane der Medusen, 1878 und Jena. Zeit. Nat., Bd. 13, 1879), [130]) Lee und Mayer (Grundzüge), [131]) Iwanzoff (Bull. Soc. Nat. Moscou., 2. Ser., Bd. 10, 1896), [132]) Drost (Morph. Jahrb., Bd. 12, 1887), [133]) Dogiel (Arch. mikr. Anat., Bd. 35, 1890), [134]) List (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), [135]) Arnold (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), [136]) M. Schultze (Virch. Arch., Bd. 30, 1864). [137]) Frey (Mikroskop, 8. Aufl.), [138]) Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 5, 1869), [139]) Boll (ebenda, Suppl., 1869), [140]) Lott (Unters. Inst. Phys. Hist. Graz, Heft 3, 1872), [141]) L. Gerlach (Arb. phys. Anst., Leipzig, Jahrg. 7, 1872), [142]) Tillmanns (Arch. mikr. Anat., Bd. 10, 1874), [143]) Baber (Journ. of Anat. Phys., Bd. 10, 1875), [144]) Lewis (Zool. Bull. Boston, Bd. 1, 1898), [145]) Minot (Amer. Nat., Bd. 20, 1886), [146]) K. Ballowitz (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 11, 1894), [147]) Moleschott und Piso-Borme (Unters. Nat. Mensch., Bd. 11, 1876), [148]) Ranvier (Arch. de phys. 2. Ser., Bd. 1, 1874), [149]) Mall (Bull. Johns Hopkins Hosp., Bd. 12, 1901), [150]) Solger (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), [151]) Eckhard (Beitr. Anat. Phys., Heft 1, 1855), [152]) Brock (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 1, 1884), [153]) Eisig (Fauna und Flora des Golfes von Neapel, Bd. 16, 1887), [154]) Fajersztajn (Arch. zool. expér., 2. Ser., Bd. 7, 1889), [155]) Apáthy (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [156]) Saviotti (Arch. mikr. Anat., Bd. 5, 1869), [157]) Schwalbe (ebenda, Bd. 6, 1870), [158]) v. Wyss (ebenda), [159]) J. Stilling (ebenda, Bd. 18, 1880), [160]) Trinkler (ebenda, Bd. 24, 1885), [161]) Koganei (ebenda, Bd. 25, 1885), [162]) A. Ewald (Zeit. Biol., Bd. 34, 1896), [163]) Friedländer-Eberth (Technik), [164]) Gage und Kingsbury (Vertebrate Histology, 1899), [165]) Czerny (Wien. med. Jahrb., Bd. 13, 1867), [166]) Langerhans (Virch. Arch., Bd. 58, 1873), [167]) Calberla (Arch. mikr. Anat., Bd. 11, 1875), [168]) Lavdowsky (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1877), [169]) Böhmig (Inaug.-Diss., Leipzig 1883), [170]) Gierke (Arch. mikr. Anat., Bd. 25, 1885), [171]) Nansen (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [172]) Fischel (Arch. mikr. Anat., Bd. 42.

1893), [173] H. Schultze (Arch. Anat., 1878), [174] Rollett (Unters. Nat. Mensch., Bd. 6, 1859 und Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 33, 1860), [175] W. Krause (Arch. Anat., 1870 und Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 1, 1884), [176] Waldeyer (Centr. med. Wiss., Bd. 3, 1865), [177] Sertoli (Morgagni 1864), [178] Dogiel (Anat. Anz., Bd. 2, 1887), [179] Randolph (Zool. Anz., Bd. 23, 1900), [180] Thin (Journ. of Anat. Phys., Bd. 13, 1879), [181] Schiefferdecker (Arch. mikr. Anat., Bd. 28, 1886), [182] Dogiel (Arch. mikr. Anat., Bd. 27, 1886), [183] Kapelkin (Bull. Soc. Nat. Moscou, 2. Ser., Bd. 10, 1897), [184] Solbrig (Ueber die feinere Struktur der Nervenelemente bei den Gastropoden, Leipzig 1872), [185] Gebhardt (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), [186] Rutherford (Journ. Anat. Phys., Bd. 31, 1897), [187] Butzke (Arch. Psych., Bd. 3, 1872), [188] André (Journ. de l'Anat. Phys., Bd. 10, 1874), [189] R. Heidenhain (Pflüger's Arch., Bd. 10, 1875), [190] Balogh (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 42, 1860), [191] S. Mayer (Lotos, Bd. 40, 1892), [192] Haller (Morph. Jahrb., Bd. 9, 1884), [193] derselbe (ebenda, Bd. 11, 1886), [194] Nansen (Bergens Museum Aarsberetning for 1886), [195] Sihler (Verh. phys. Ges., Berlin 1894), [196] derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), [197] derselbe (Zeit. wiss. Zool., Bd. 68, 1900), [198] Batten (Brain, Bd. 20 u. 21, 1897 u. 1898), [199] Hemenway (Biol. Bull. Boston, Bd. 1, 1900), [200] Meissner (Zeit. rat. Med., N. F., Bd. 8, 1857), [201] Blaschko (Virch. Arch., Bd. 94, 1883), [202] Löwy (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891), [203] Stirling (Journ. of Anat. Phys., Bd. 17, 1883), [204] Soulier (Thèse de Paris, 1891), [205] Gage (Proc. Am. Soc. Micr., 1890), [206] Reinke (Anat. Anz., Bd. 8, 1893), [207] Froriep (Arch. Anat., 1878), [208] Hopkins (Proc. Am. Soc. Micr., 1890), [209] Motta-Coco u. Ferlito (Mon. zool. ital., Bd. 10, 1899).

Spalteholz, Leipzig.

Macerationsverfahren bei pflanzlichen Geweben. Ausser der bei vielen Objekten zur Trennung der einzelnen Elemente ausreichenden Zerstörung der pektinreichen Mittellamelle durch salzsauren Alkohol (siehe Zellmembrane, pflanzliche), das auch unter Umständen durch einfaches Kochen in verdünnten Säuren und selbst Wasser (Epidermis von Laubblättern, Fruchtfleisch) zu erreichen ist, hat nur das Schulz'sche Gemisch allgemeine Bedeutung zumal zur Isolirung der Holzelemente (wobei auch die Verholzung entfernt wird). In einem Regenerator werden einige Stücke chlorsaures Kali mit Salpetersäure gerade überdeckt und die zu macerirenden kleinen Pflanzentheile hineingebracht und über der Flamme erwärmt, bis lebhafte Gasentwicklung eintritt. Man lässt das Reagenz noch einige Minuten einwirken und giesst dann in eine Schale reinen Wassers und überträgt vor der Untersuchung die Fetzen noch einmal in reines Wasser. Korkzellen werden am leichtesten durch Kochen in verdünnter Kalilauge isolirt. Neuerdings wird auch noch Ammoniak empfohlen. Es löst die Zellen des Kartoffelparenchyms in 5 Minuten, das Holz von Taxus bei 40° in vier Tagen und zwar ohne die Inhaltsbestandtheile der Zellen wesentlich zu schädigen.

Litteratur: Richter (Oest. bot. Zeit., Bd. 55, 1900). *Magnus,* Berlin.

Mäuseseptikämiebacillus. Bacillus murisepticus verhält sich gegen Farbstoffe ganz so wie der Bacillus des Schweinerothlaufs. Er färbt sich mit den gebräuchlichen wässerigen Farblösungen, auch nach der Gram-schen Methode. Schnitte färbt man erst nach Vorfärben mit Pikrokarmin nach der Gram'schen Methode. *Künnemann,* Breslau.

Magdalaroth, Syn. Naphthylaminrosa, Sudanroth, ein Naphtosafranin, und zwar das salzsaure Salz vom Rosanaphtylamin: $C_{30}H_{21}N_3 . HCl + H_2O$ (Durand). Dunkelbraunes Pulver, das in kaltem Wasser schwer, leichter in heissem Wasser und Alkohol löslich ist. Die alkoholische Lösung fluorescirt. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure violett, mit Natronlauge entsteht ein rothvioletter Niederschlag. Wird in der technischen Färberei im Seifenbad für Seide viel benutzt, da die Farbe ausserordentlich haltbar und sowohl säure- als alkalifest ist.

Das Magdalaroth ist ähnlich wie das Safranin zur Kernfärbung von Flemming empfohlen worden. Kultschitzky empfiehlt eine Kombination von Magdalaroth und Methylenblau zur Färbung der elastischen Fasern in der Milz. Das Material wird in Alkohol mit 1% Essigsäure fixirt. Die Schnitte werden 18—24 Stunden lang gefärbt in: Magdalaroth 0,5 Grm, Methylen-

blau 0,25 Grm., 1%iges wässeriges Kaliumkarbonat 10 Ccm. und 96%igen Alkohol 200 Ccm. Auch zur Nachfärbung von GOLGI-Präparaten hat es mehrfach Verwendung gefunden (PAL, TAL).

Litteratur: FLEMMING (Arch. mikr. Anat., Bd. 19, 1881), KULTSCHITZKY (ebenda, Bd. 46, 1895), PAL (Wien. med. Jahrb., N. F., Bd. 1, 1886), TAL (Gazz. Ospitali, Bd. 7, 1886).

Magen. Dass das Sublimat zur Fixation der Magenschleimhaut das geeignetste Mittel ist, wurde von den meisten Autoren zugegeben und ist von uns vielfach erprobt worden. Die Frage ist nur, wie man es am geeignetsten anwendet. Während die einen empfehlen, die Sublimatlösung direkt in den Magen mit der Schlundsonde einzuführen (WARBURG, SCHMIDT), spülen die anderen vor der Fixation den Magen erst mit erwärmter Kochsalzlösung aus (DAMASCHINO, EWALD, MEYER). Wir geben dieser letzteren Methode entschieden den Vorzug und empfehlen, der physiologischen Kochsalzlösung eine Spur kohlensaures Natron zuzusetzen, mittels der Schlundsonde den Magen mit der warmen Lösung gut auszuspülen und dann erst die Fixationslösung ebenfalls warm zu injiciren. Man erhält so viel schönere und reinlichere Bilder vom Oberflächenepithel, das andernfalls häufig von einer zusammenhängenden Schicht von Schleim bedeckt ist. Wenn irgendwie möglich, soll man zur Untersuchung hungernde Thiere wählen mit leerem Magen. Man kann aber auch ohne Injektion auskommen, wenn man den Magen öffnet, vorsichtig abspült und dann Stücke der Magenwand auf Wachsplatten aufspannt.

Ausser dem reinen koncentrirten Sublimat (STEIN, LUKJANOW, HOPKINS, CARLIER) ist dann vor allem Sublimatalkohol empfohlen worden von SCHMIDT (2,5% Sublimat in 50%igem Alkohol); WARBURG injicirt zuerst die gleiche Lösung und legt dann in koncentrirtes Sublimat ein. CARLIER empfiehlt Pikrin-Sublimat nach MANN. Auch die Formolfixation hat in letzter Zeit manche Anhänger gefunden, THÉOHARI fixirt in 10%igem Formol, REEKINCK in 4%igem Formol, CADE in der BOUIN'schen Formol-Pikrin-Essigsäure. Für Amphibien leistet auch FLEMMING'sche oder HERMANN'sche Flüssigkeit gute Dienste.

Will man recht dünne Schnitte herstellen, so wird man gut thun, von den im 95%igen Alkohol befindlichen Stücken die Schleimhaut abzuschneiden und allein einzubetten.

Die Färbung der Magenschleimhaut soll vor allem eine gute Differenzirung der Haupt- und Belegzellen liefern. Es empfehlen sich dazu Doppelfärbungen mit Alaunkarmin-Indigokarmin (Hauptzellen schwach roth, Belegzellen tief blau), mit Hämatoxylin-Säurefuchsin (Hauptzellen blau, Belegzellen roth). KOLSTER färbt in Hämatoxylin, entfärbt in Salzsäurealkohol bis zur schwachen rosa Tinktion, neutralisirt in 1%igem Ammoniakalkohol, wäscht aus und färbt 1—5 Minuten in dünnem Säurefuchsin. Kongoroth färbt die Belegzellen intensiv blau, während die Hauptzellen ungefärbt bleiben (STEIN). Man kann auch zunächst mit Hämatoxylin und dann mit Kongoroth färben (STINTZING). Es färben sich dann die Hauptzellen blau, die Belegzellen roth.

Zur Isolation der Magendrüsen empfiehlt HOPKINS Einlegen in 20%ige Salpetersäure, auswaschen in Wasser und übertragen in koncentrirte wässerige Alaunlösung zur Isolation des Epithels eine Lösung von 0,1 Grm. Pikrinsäure in 95%igem Alkohol 25 Ccm. und Wasser 75 Ccm., aufheben in Glycerin.

Die Golgimethode liefert für den Magen sehr instruktive Bilder. Die Ausführungsgänge der Magendrüsen erscheinen ebenso, wie die die Belegzellen umgebenden Sekretkörbe imprägnirt (E. MÜLLER); mit der SMIRNOW'schen Modifikation (siehe Golgimethode) lassen sich auch die Nerven der Magendrüsen darstellen (KUTMANOW).

Litteratur: Warburg (Inaug.-Diss., Bonn 1894), Schmidt (Virch. Arch., Bd. 143, 1896), Damaschino (Gazz. méd., 1880), Ewald (Klinik der Verdauungskrankheiten, 3. Aufl., Berlin 1890), Meyer (Zeit. klin. Med., Bd. 16, 1889), Stein (Mitth. embryol. Inst. Wien 1892), Lukjanow (Arch. Anat., 1887), Hopkins (Proc. Amer. Soc. Micr. 13. meeting, Detroit 1890), Carlier (Cellule, Bd. 16, 1899), Théohari (Arch. d'Anat. micr., Bd. 3, 1899), Cade (ebenda; Bd. 4, 1901), Stintzing (cit. Böhm u. Oppel, Taschenbuch), E. Müller (Om inter och intracellulära Körtelgångar, Akademisk afhandlung, Stockholm 1894), Kutmanow (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 13, 1896), Reerinck (Beitr. path. Anat., Bd. 28, 1900).

Mageninhalt. Ueber die mikroskopische Untersuchung des Mageninhalts, die zwar für die Diagnose und Prognose der Krankheit an Bedeutung hinter der chemischen Untersuchung im allgemeinen zurücksteht, jedoch in keinem Falle unterlassen werden sollte, mögen die folgenden kurzen Bemerkungen genügen. Im übrigen ist in Bezug auf die Deutung der Befunde in den Lehr- und Handbüchern der Magenkrankheiten nachzulesen

Der zu untersuchende Mageninhalt, der entweder aus erbrochenen oder aus ausgeheberten Massen besteht, wird filtrirt. Das Filtrat dient zur chemischen Untersuchung; vom Filterrückstand werden Proben zur mikroskopischen Besichtigung verwandt. Hiezu werden zunächst ungefärbte Präparate hergestellt und mit schwacher, dann eventuell stärkerer Vergrösserung untersucht. Mit dieser Untersuchung kommt man in der Regel zum Ziele.

Zur Untersuchung auf Karcinom ist es nach Sahli öfters erforderlich, bei leerem Magen eine Ausspülung zu machen, das Spülwasser zu centrifugiren und alsdann das Centrifugat nach Abgiessen der Flüssigkeit auf Geschwulstelemente zu untersuchen. Eventuell ist der Vorgang des Centrifugirens mit gewechselter Flüssigkeit zu wiederholen, wobei man natürlich die untere Kuppe des Centrifugenröhrchens nicht mit entleeren darf; der so erhaltene Rückstand enthält naturgemäss mehr Formelemente, als wenn man nur einmal centrifugirt.

Im Besonderen gelten die an anderen Stellen dieses Buches entwickelten Regeln. So kommt für die Untersuchung auf Stärkekörner ihre Blaufärbung mit sehr verdünnter Lugol'scher Lösung in Betracht (siehe auch bei Jod und Jodkalium). Blut wird durch den Nachweis der Körperchen oder durch den positiven Ausfall der Teichmann'schen Probe erkannt. Eiterkörperchen sind ebenfalls im ungefärbten Präparat als solche zu erkennen. Sollte es aus irgend einem Grunde erforderlich sein, Trockenpräparate der rothen oder weissen Blutkörperchen zu machen, so erfolgt dies nach den allgemeinen Regeln (siehe Blut). Dasselbe gilt von der Untersuchung auf Bakterien, sowie dem Nachweise von Hefen. Für letztere empfehlen sich stark verdünnte Lösungen von Bismarckbraun oder Methylenblau.

Wenn es sich darum handelt, Mageninhalt zu konserviren, so kommt man mit verdünnten Formollösungen aus; so kann man nach Rohnstein ein Formolglyceringemisch (Formol 20,0, Glycerin 125,0, Aq. dest. ad 200) zu diesem Zwecke verwenden.

Litteratur: (Die Lehr- und Handbücher der Magenkrankheiten), Rohnstein (Fort. Med., Bd. 20, 1902), Sahli (Klinische Untersuchungsmethoden, 1899). *Mosse*, Berlin.

Magensaft, künstlicher, Darstellung desselben siehe Zellchemie.

Magenta oder **Magentaroth,** Syn. für Fuchsin, vor allem in England gebräuchlich.

Magnesia, Magnesia usta, gebrannte Magnesia, Magnesiumoxyd: MgO. Weisses, geschmackloses Pulver, das sich in Wasser nur spurenweise zu einer ganz schwach alkalischen Flüssigkeit löst. (Die Angaben über die Löslichkeit der Magnesia schwanken zwischen 1 : 5142 und 1 : 100.000.) Leichter löslich ist es bei Gegenwart von Ammoniumsalzen, leicht löslich in

verdünnten Säuren. Wird künstlich dargestellte Magnesia mit wenig Wasser angerührt, so erstarrt sie zu einer festen Masse (hydraulische Magnesia). An der Luft zieht Magnesia allmählich Kohlensäure an unter Bildung von Magnesiumkarbonat.

Von MAYER ist die Magnesia zur Herstellung von Karmin und Hämatoxylinlösung verwendet worden.

Magnesiakarmin siehe Karmin.

Magnesiumchlorid $MgCl_2 + 6H_2O$, farblose, monokline Krystalle, die in Wasser zu 140% und auch in Alkohol leicht löslich sind. Beim Erhitzen zerfällt es unter Abgabe seines Krystallwassers in Magnesiumoxyd und Salzsäure.

Das Magnesiumchlorid ist von TULLBERG zum Narkotisiren von Aktinien benutzt worden. (Näheres siehe Cölenteraten.)

Magnesiumchromat, $MgCrO_4 + 7H_2O$. bildet gelbe, leicht lösliche Krystalle. (Siehe auch chromsaure Salze.)

Magnesiumkarbonat, basisch-kohlensaure Magnesia. Magnesia alba: $3MgCO_3 + Mg(OH)_2 + 3H_2O$, weisses amorphes Pulver, das in Wasser etwas leichter als Magnesiumoxyd löslich ist (1 : 2500). Mit der Erhöhung der Temperatur nimmt die Löslichkeit ab. Von kohlensäurehaltigem Wasser wird es leicht gelöst. Die wässerige Lösung reagirt schwach alkalisch.

Von MAYER zur Herstellung von Karminlösungen benutzt.

Magnesiumsulfat, Magnesia sulfurica, Bittersalz: $MgSO_4 + 7H_2O$, farblose Prismen, die sich in Wasser bei 15° zu 70% lösen, in Alkohol unlöslich sind. Die wässerige Lösung reagirt neutral. Bei 200° verliert es sein Krystallwasser. Mit den Alkalisulfaten verbindet es sich zu Doppelsalzen.

Das Magnesiumsulfat ist ähnlich wie das Magnesiumchlorid zum Betäuben von niederen Seethieren empfohlen worden von REDENBAUGH für Anneliden, von DUERDEN für Aktinien, von GEROULD für Holothurien. Man bringt dieselben entweder in eine koncentrirte Lösung oder setzt dem Seewasser das trockene Salz zu.

Litteratur: REDENBAUGH (Amer. Nat., Bd. 26, 1895), DUERDEN (Journ. Inst. Jamaica, Bd. 1, 1898), GEROULD (Bull. Mus. Harvard, Bd. 29, 1896).

Malachitgrün. Syn. für Benzoylgrün (Berlin Höchst).

Das Malachitgrün wird heute in der mikroskopischen Technik kaum mehr verwendet, es ist durch das Methylgrün fast völlig verdrängt worden. v. BENEDEN und seine Schüler haben es vor allem zur Färbung von Ascariseiern in toto empfohlen entweder allein oder in Verbindung mit Bismarckbraun in $^1/_4$%iger wässeriger, mit etwas Glycerin versetzter Lösung. PETROFF empfiehlt es zur Färbung der Erythrocyten in 20%iger wässeriger Lösung. Schnitte von Müller- oder Formolmaterial werden zunächst in Boraxkarmin gefärbt, in Salzsäurealkohol differenzirt, in Wasser abgespült und dann in Malachitgrün 10—15 Minuten gefärbt. Differenziren in 4—5fach verdünntem GIESON'schen Pikrinfuchsin, rasch in absolutem Alkohol entwässern, Xylol, Balsam.

Grössere Bedeutung kommt dem Malachitgrün als Lichtfilter zu, es hat nach GIFFORD vor dem Kupferchromfilter den Vorzug, dass es mehr monochromatisches und intensiveres Licht als jenes liefert.

Litteratur: VAN BENEDEN und NEYT (Bull. Ac. Belg., Bd. 14, 1887), HERLA (Arch. Biol., Bd. 13, 1893), GIFFORD (Journ. Roy. Micr. Soc., 1894).

Malariaplasmodien und andere Blutparasiten. Die Untersuchung der Blutparasiten von Menschen und Thieren, insbesondere

die der menschlichen Malariaplasmodien in gefärbten Präparaten, ist nicht nur für das Studium der feineren Struktur und der Entwicklung dieser meist protozoischen, überaus zarten Gebilde, sondern schon zu ihrer sicheren Erkennung in vielen Fällen unentbehrlich. Geübte Beobachter sind zwar imstande, unter günstigen Verhältnissen die Parasiten auch in frischen, ungefärbten Präparaten nach Art und Entwicklungsstadium zu bestimmen, unter Umständen begegnet das aber sehr grossen Schwierigkeiten. So kann als untrügliches Erkennungsmerkmal der menschlichen Malariaparasiten im ungefärbten Präparat nur das in ihnen enthaltene Pigment angesehen werden. Pigment ist aber durchaus nicht in allen Malariaparasiten vorhanden, es fehlt allen Jugendformen. Auch die Zahl der erkennbaren Parasiten ist meist in gefärbten Präparaten grösser als im ungefärbten Blut. Die feineren Strukturverhältnisse sind bei allen Blutparasiten nur in gefärbten Präparaten zu erkennen.

Eine Färbung der Blutparasiten lässt sich mit den meisten Methoden, die für die Blutfärbung überhaupt ausgebildet sind, erreichen; die Leistungen der einzelnen Methoden sind aber so verschieden, dass von der Unzahl der Blutfärbemethoden doch nur sehr wenige für diesen besonderen Zweck in Betracht kommen. Umgekehrt giebt eine für die Differenzirung des feineren Baus der Malariaparasiten besonders ausgearbeitete Methode (cf. u.) so viel Einzelheiten auch des histologischen Blutbildes her, dass sie für die Blutpathologie überhaupt mindestens als gleichwerthig mit den besten, sonst üblichen Färbemethoden gelten darf. Die Färbung der Thierblutparasiten gelingt ebenfalls am besten mit dieser Methode.

Für die »vitale« Färbung der Blutparasiten ist am meisten die neuerdings von Rosin und Bibergeil angegebene Vorschrift der vitalen Blutfärbung, und zwar die mit Methylenblau zu empfehlen. Ihr Princip beruht darauf, dass Deckgläschen in dünnster Schicht mit koncentrirten, wässerigen oder alkoholischen Methylenblaulösungen bestrichen werden. Dann lässt man die Deckgläschen trocknen. Die Farbe darf nur wie ein Hauch auf dem Gläschen erscheinen und deutlich erst auf weissem Untergrunde zu erkennen sein. Auf dem so präparirten Deckgläschen wird ein Blutstropfen in der sonst für Trockenpräparate üblichen Weise ausgestrichen. Das Deckgläschen muss dann, ehe es trocknet, schnell auf einen hohlgeschliffenen Objektträger gebracht werden, der schon vorher mit Paraffin zur Verhütung weiteren Austrocknens des Präparates beschickt ist. Die Malariaparasiten färben sich ungefähr zu derselben Zeit wie die Leukocyten im zartesten Blau, die feineren Strukturverhältnisse, namentlich die Kerne der Parasiten sind aber mit der vitalen Färbung nicht zu erkennen. Von wirklichen Lebensäusserungen der Malariaparasiten hat man übrigens bisher im überlebenden Deckglasblut nur die Geisselbildung der Mikrogametocyten beobachtet. Hierzu bedarf man der vitalen Färbung nicht und so bietet vorläufig diese Art der Einwirkung von Farbstoffen auf Malariablut weder für die Schnelligkeit der Diagnose, noch für die Erkennung feinerer Strukturverhältnisse oder Lebensäusserungen der Parasiten besondere Vortheile.

Wie beim Studium des Blutes überhaupt, handelt es sich auch bei dem der Blutparasiten hauptsächlich um die Anfertigung und Färbung von Trockenpräparaten.

Zur Entnahme von Menschenblut eignen sich für die Untersuchung von Blutparasiten sowohl die Fingerkuppe wie das Ohrläppchen. Die Wahl der Fingerkuppe empfiehlt sich besonders, wenn man von einem Patienten schnell mehrere Objektträger oder eine grössere Anzahl von Deckgläschen mit Blut bestreichen will. Die Fingerkuppe ist zuvor mit Seife gründlich abzuwaschen, die oberste, dicke, schmutzige Epidermisschicht muss eventuell mit der Schere vorsichtig abgetragen werden, die darunter liegende, zarte Haut wird mit Alkohol und Aether gereinigt und dann mit einer nach Ehrlich präparirten Stahlfeder (cf. Artikel Blut) angeschnitten. Wo es gilt, mehreremale an einem Tage in kurzen Zwischenräumen von einem Patienten Blut zu entnehmen, ist das Ohrläppchen unbedingt vorzuziehen, da dort auch ein wiederholter Eingriff — es genügt ein seichter Einstich mit einer feinen Nadel — keine Schmerzen und Unbequemlichkeiten verursacht, wäh-

rend die öftere Wiederholung des Anzapfens der empfindlicheren Fingerkuppen mittelst Schreibfederschnittes von den Patienten meist nicht gern gesehen wird. Im übrigen ist die Entscheidung zwischen Fingerkuppe und Ohrläppchen oder einer anderen Stelle Geschmacksache. Bei Vögeln ist vorsichtig mit feinster Iridiumnadel eine kleine Flügelvene anzustechen, bei Ratten (Trypanosomen) empfiehlt sich die Amputation eines kleinen Stückchens vom Schwanz; Affen (Malaria oder Filaria) werden in den Schwanz, ein Ohrläppchen oder einen Finger gestochen, bei den übrigen Säugethieren (Hunden — Filaria, Pirosoma, Trypanosoma — Einhufer und Wiederkäuer — Pirosoma und Trypanosoma u. s. w.) wähle man eine Ohrvene. Bei Kaltblütern Amputation des Schwanzes; wo diese nicht zum Ziele führt, tiefer Einschnitt in die Gegend der grösseren Gefässe.

In jedem Falle ist das hervorquellende Blut möglichst schnell, möglichst dünn und möglichst gleichmässig auf sehr sorgfältig gereinigte und in Alkohol und Aether entfettete, trockene Deckgläser oder Objektträger auszustreichen, wobei mit Sorgfalt darauf zu achten ist, dass weder die Finger des Untersuchenden, noch die Haut, Haare, Federn oder dergl. von dem Blutliefernden mit der Ausstrichfläche des Glases in Berührung kommen. Auch darf die Fläche nicht durch Feuchtigkeit (z.B. vom Hauch des Mundes oder von feuchten Fingern) beschlagen werden. Für Objektträger empfiehlt es sich, das Blut nach der Methode Jancso-Rosenberger auszustreichen. Ob man auf solche Weise auch Deckgläschen mit Blut beschicken oder lieber nach der Ehrlich'schen Art verfahren will, ist, die nöthige Uebung vorausgesetzt, wiederum Geschmacksache. Bei Jancso-Rosenberger bleiben wie die weissen Blutkörperchen auch sehr viele der mit Parasiten behafteten, rothen Blutkörperchen an den Rändern des Präparates kleben. Diese Methode ist daher, wie sich dies ja auch in Bezug auf die Leukocyten herausgestellt hat, nicht zu empfehlen, wenn man sich über die Anzahl und Vertheilung von Parasiten im Blut orientiren will. Für die einfache Untersuchung zu klinischen Zwecken empfehlen sich Objektträgerausstriche; auf Reisen und wo man die Präparate in grösseren Mengen aufheben, erst später färben oder verschicken will, sind Deckgläschen vorzuziehen. Die in Papier eingeschlagenen und mit Aufschrift versehenen Deckgläschen sind sorgfältig vor dem Feuchtwerden zu schützen. R. Koch empfiehlt deshalb. sie mit Fliesspapier zu umwickeln und in einem leeren Deckglasschächtelchen zu sammeln. Die von verschiedenen Blutlieferanten stammenden oder zu verschiedenen Zeiten entnommenen Deckgläschen sind auf ihrer Umhüllung zu etiquettiren. Das gefüllte Deckglasschächtelchen wird in Fliesspapier gewickelt und in ein Glas mit weitem Hals- und Glasstöpsel gelegt, in dem sich einige Stückchen Chlorcalcium befinden. Ohne diese Vorsichtsmassregeln verschimmeln die Präparate in den Tropen oft in wenigen Tagen. Aber auch die in dieser Weise aufbewahrten Präparate büssen regelmässig nach 6—8 Monaten an Färbbarkeit mehr oder weniger erheblich ein, namentlich gilt dies von den färbbaren Kernbestandtheilen der Blutparasiten. Besser haben sich mir in Paraffin aufbewahrte Deckglaspräparate erhalten, am besten scheint die Färbbarkeit — nicht die Färbung selbst — sich in Kanadabalsam zu konserviren, wenigstens gelang es mir bisher fast regelmässig ganz gut, alte, abgeblasste Kanadabalsampräparate wieder aufzufärben und dabei auch den Kern der Parasiten zur Anschauung zu bringen.

Die Härtung und Fixirung der Präparate, die vorher vollständig lufttrocken geworden sein müssen, kann mit Alkohol-Aethermischungen oder durch Alkohol allein (70—90%) oder durch Erwärmen nach Ehrlich (cf. Artikel Blut) vorgenommen werden. Wesentliche Unterschiede in der Güte der Färbung treten dabei nicht zutage. Am bequemsten ist die Alkoholhärtung, die in ½—1 Stunde vollendet ist. Ob die Präparate gehärtet oder ungehärtet

aufbewahrt werden, macht für ihre spätere Färbbarkeit keinen Unterschied aus. Es empfiehlt sich aber, auch die schon gleich nach dem Bestreichen in Alkohol gehärteten, älteren Präparate, ehe sie gefärbt werden, noch einmal auf einige Minuten in ca. 70%igen Alkohol zu legen, weil sie sich sonst oft nur schwer benetzen und darum ungleichmässig und schlecht färben.

Die Malariaplasmodien und die übrigen Blutparasiten lassen sich einfarbig oder zweifarbig färben. Im ersteren Fall bleibt der Kern bei allen Blutparasiten — mit Ausnahme mancher Blutparasiten von Kaltblütern — gänzlich ungefärbt, nur das Protoplasma nimmt den angewandten Farbstoff an. An der Stelle des Kernes erscheint eine helle Lücke im Parasitenleibe. Für die Diagnose ist diese einfache Färbung in jedem Fall vollkommen genügend, bei den menschlichen Malariaparasiten z. B. kann man nicht nur die Anzahl, sondern auch die Art und das Entwicklungsstadium genau so gut feststellen, wie bei der Differenzirung der Kerne der Parasiten durch Doppelfärbung.

Am besten eignen sich für die einfache Färbung wässerige Methylenblaulösungen; am schnellsten und zuverlässigsten färbt die durch R. Koch's Empfehlung jetzt zu allgemeiner Anwendung gelangte Manson'sche Boraxmethylenblaulösung, 5% Borax, 2% Methylenblau. Nicht alle Sorten Methylenblau sind gleichwerthig. R. Koch benutzt das Methylenblau medicinale der Höchster Farbwerke. Auch das Merck'sche Methylenblau ist empfehlenswerth.

»Die Methylenblaulösung wird so weit mit Wasser verdünnt, dass sie in einer Schicht von 1 Cm. Dicke eben anfängt, durchscheinend zu werden. In diese verdünnte Lösung wird das aus dem Alkohol genommene und vollkommen getrocknete Deckglas einigemale eingetaucht und mit gewöhnlichem Wasser gespült, bis es einen grünlich-blauen Farbenton angenommen hat. Es wird zwischen Fliesspapier getrocknet und in Cedernöl untersucht. Wenn das Präparat gut gelungen ist, dann müssen die rothen Blutkörperchen gleichmässig ausgebreitet in einfacher Schicht liegen, nicht Haufen oder Rollen bilden. Ihre Farbe muss hellgrünblau sein. Die Kerne der Leukocyten sind dunkelblau, die Malariaparasiten erscheinen ebenfalls kräftig blau gefärbt und sind auf den blassen, grünlichen Blutkörperchen leicht zu sehen. In einem solchen Präparat kann kein Parasit von einem einigermassen geübten Beobachter übersehen werden« (R. Koch).

Die Manson'sche Lösung hält sich nur ca. 6 Wochen in ihrer vollen Färbekraft und muss deshalb öfters erneuert werden.

Zur einfachen Färbung der Blutparasiten ist auch die Färbung mit den sonst zur Blutfärbung üblichen Farbgemischen, wie Triacidlösung, Hämatoxylineosin, Methylenblaueosin zu rechnen, da sich hierbei zwar die weissen und rothen Blutkörperchen in verschiedenen Farben präsentiren, die Blutparasiten selbst aber immer nur einfarbig erscheinen. Die schönsten Bilder geben die Eosin-Methylenblaukombinationen. Die Parasiten sind blau gefärbt und heben sich von den eosinfarbenen, rothen Blutkörperchen sehr schön ab. Ueber die zweckmässigste Art der Mischung von Eosin und Methylenblau giebt es in der Literatur sehr viele Angaben, aber alle leiden an Unzuverlässigkeit, auch die Plehn-Czenczinsky'sche Lösung, die in der Regel wunderschön färbt, versagt manchmal gänzlich.

Ein sehr einfaches und sicheres Verfahren besteht darin, dass man einer wässerigen Eosinlösung (ca. 1:10.000) so lange tropfenweise wässerige Methylenblaulösung hinzufügt, bis die Mischung wieder ganz rein blau geworden ist oder höchstens an den Rändern noch einen Eosinton zeigt. Durch den Zusatz der Methylenblaulösung bildet sich ein reichlicher Niederschlag, der sich, wenn man mit den Zumischen des Methylenblau so lange fortfährt, wie es nöthig ist zum Hervorbringen des rein blauen Tones in der Mischung, zum grössten Theil wieder löst. In der Mischung bleiben die Präparate $1/2$—1 Stunde.

Im Jahre 1891 hat Romanowsky eine Färbemethode angegeben, mittels der es gelingt, durch Mischung von wässerigen Eosin- und Methylenblaulösungen in den im übrigen blau gefärbten Malariaplasmodien Bildungen von rother Farbe nachzuweisen, die bei allen andern Farbmethoden ungefärbt

bleiben. Diese rothen Gebilde sind, wie ROMANOWSKY selbst schon hervorgehoben hat, Kernbestandtheile der Malariaparasiten. Auch in den übrigen Blutparasiten (Pirosoma, Trypanosoma u. s. w.) erscheinen durch die ROMANOWSKY-Färbung rothe, sonst nicht sichtbare Kernbestandtheile in den Parasiten; ähnliche Kernfärbungen erhält man durch die ROMANOWSKY-Färbung bei Bakterien (ZIEMANN, ZETTNOW, FEINBERG), Amöben und den meisten anderen, thierischen und pflanzlichen Mikroorganismen, z. B. bei den Gregarinen, Coccidien, Sarkosporidien u. s. w. Auch die Kerne gewisser Zellen der Parasitenwirthe, der Metazoen färben sich bei der ROMANOWSKY-Färbung mit derselben prachtvoll rothen Farbe wie die der einzelligen thierischen oder pflanzlichen Mikroorganismen.

Ich kann nicht finden, dass man, wie LÖFFLER* meint, bei der ROMANOWSKY-Methode schon an der Farbe der Kerne es sehen könne, ob man eine Körperzelle oder ein parasitisches Wesen vor sich habe. Die Kerne der Lymphocyten und der grossen mononukleären Leukocyten sind in Malariablutpräparaten ebenso leuchtend roth als die der Plasmodien. Als kompaktere Gebilde haben sie allerdings mehr Farbstoff aufgenommen als die unendlich zarten, färbbaren Kernbestandtheile der Plasmodien, sie zeigen deshalb eine sattere tiefere Schattirung Das ist aber nur ein Grad, aber kein Artunterschied. Neuerdings hat FEINBERG darauf aufmerksam gemacht, dass ein durchgehender Unterschied zwischen einzelligen, thierischen, selbständigen Organismen und den Körperzellen darin zu finden sei, dass der Kern bei den selbständigen thierischen und vielleicht auch den pflanzlichen Mikroorganismen aus einem färbbaren Körperchen und einer dasselbe umgebenden, hellen, ungefärbten Zone, die ihrerseits durch einen scharfen Rand von dem Plasma getrennt sei, bestäude. v. LEYDEN habe diesen Kern mit dem Aussehen eines Vogelauges verglichen. FEINBERG giebt an, diese Kernform bei allen bisher von ihm untersuchten einzelligen, thierischen Organismen speciell bei Amöben und bei den Malariaparasiten gefunden zu haben. Da die Kerne der Körperzellen diese Form nie haben, so sei ein so beschaffener Kern immer ein Beweis für das Vorhandensein einer Amöbe oder eines anderen, selbständigen Mikroorganismus.

In dieser Allgemeinheit kann ich dieser Behauptung FEINBERG's nicht beitreten. Es ist richtig, dass bei den Malariaparasiten in der Regel um den gefärbten Kernbestandtheil herum eine mehr oder weniger breite Zone ungefärbt bleibt, es giebt aber auch Entwicklungsstadien der menschlichen Malariaparasiten, bei denen die helle Zone bei der ROMANOWSKY-Färbung verschwunden ist und der blaue Protoplasmaleib dem rothen Kern unmittelbar angrenzt.

In dieser Weise färben sich z. B. die frischen, eben durch Theilung entstandenen und noch nicht in ein neues Blutkörperchen eingedrungenen Jugendformen der Parasiten, und dasselbe findet man, wenn nicht durchgängig, so doch recht häufig bei den ganz erwachsenen, kurz vor der Theilung befindlichen und bei den Gametenformen, sowie bei den Ookineten und Sichelkeimen. Die für die endogene Entwicklung bestimmten Formen der Proteosomaparasiten des Vogelblutes lassen sämmtlich die helle Zone vermissen, auch die Blutparasiten der Kaltblüter haben keine helle Zone um ihren Kern. Heu- und Erdamöben, auf Fucus gezüchtet, färben sich wie Körperzellen, an den rothen Kern schliesst sich unmittelbar der blaue Zellenleib. Auf der anderen Seite hat schon EHRLICH darauf hingewiesen, dass die Lymphocyten des Blutes häufig um ihren Kern einen schmalen, ungefärbten Hof haben und neuerdings habe ich bei geeigneter Entfärbung von nach ROMANOWSKY gefärbten Blutpräparaten um den Kern der grossen mononukleären Leukocyten eine breite ungefärbte Zone zur Darstellung bringen können, die nach aussen nur noch von einem schmalen, blassblauen Ring begrenzt war, so dass also in dieser Beziehung jeder Unterschied zwischen diesen Leukocyten und den Malariaparasiten fehlte.

Der allgemeine Werth der ROMANOWSKY'schen Methode beruht nicht darin, dass man damit protozoische Parasiten von metazoischen Zellen ohne weiters unterscheiden kann, sondern darin, dass man damit in den allermeisten zelligen Gebilden einen Kern u. zw. anscheinend überall, auch dort, wo dies mit andern Methoden nicht zu erreichen ist, nachweisen und dadurch organisirte Gebilde von Kunstprodukten und Degenerationsformen unterscheiden kann. So kann man mittels dieser Methode auch in den Blutplättchen einen Kern nachweisen, was die Angaben von DEETJENS über die Struktur und Bedeutung der Blutplättchen bestätigt. Leider ist die Methode bis jetzt für die Färbung von Schnitten nicht zu brauchen, weil die gebräuchlichen Entwässerungsmittel den charakteristischen Farbstoff ausziehen. Für

* Anmerkung. Verhandlungen der Section für Hygiene und Tropenhygiene in der Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Hamburg 1901.

Ausstrichpräparate aber verdient sie die weiteste Verbreitung und dürfte nicht blos bei der Blutfärbung überhaupt, sondern auch bei anderen Trockenpräparaten von Zellen zur Auffindung mancher neuen Einzelheiten führen.

Die Wirkung der Romanowsky-Methode, auch dort wo dies mit andern Färbungen nicht gelingt, Kernbestandtheile sichtbar zu machen, beruht auf der Anwesenheit eines dritten Farbstoffes, der in den geeigneten Eosin Methylenblaumischungen die Kernfarbe hergiebt. Romanowsky selbst hatte dies noch nicht erkannt. Seine Angaben waren deshalb für die Erzielung einer sicheren Wirkung ungenügend und die Herstellung richtig gefärbter Präparate hing vom Zufall ab. Ziemann gebührt das Verdienst, die wegen ihrer Unsicherheit verlassene Methode wieder aufgenommen und durch genauere Angaben brauchbar gemacht zu haben. Er beschränkte sich aber bei seinen ausserordentlich fleissigen Untersuchungen darauf, die richtigen Mischungsverhältnisse festzustellen, damit der in den unpräparirten Farblösungen nur sehr spärlich und nur als zufällige Beimischung vorhandene, dritte Farbstoff genügend zur Geltung komme. Wenn nicht ganz bestimmte Farbmarken angewandt werden und nicht peinlich genau nach den komplicirten Ziemann'schen Angaben verfahren wird, bleibt die Färbung aus. Gestützt auf die Unna'schen Angaben über sein polychromes Methylenblau habe ich festgestellt, dass es ein durch die Einwirkung von Alkalien auf wässerige Methylenblaulösungen gebildeter Farbstoff ist, der die specifische Romanowsky'sche Färbung bewirkt. Diesen durch Chloroform oder Aether aus einer mit Alkalien behandelten Methylenblaulösung ausziehbaren Körper nannte ich, um nichts über seine chemische Beschaffenheit auszusagen »Roth aus Methylenblau«. Mir war wohl bekannt, dass es sich nicht um einen einheitlichen Stoff dabei handelt und dass bei der Zersetzung des Methylenblau durch Alkalien äusserst komplicirte Verhältnisse obwalten.

Neuerdings hat Reuter behauptet, dass das von mir sogenannte »Roth aus Methylenblau« die Chromatinfärbung der Malariaparasiten nicht verursache und die wirksame Farbkomponente nicht enthalte, sondern nur den Indikator dafür abgebe, dass der wirksame Farbkörper in der zu benutzenden Methylenblaulösung überhaupt vorhanden sei. Er stützt seine Behauptung auf die von ihm gemachte Beobachtung, dass weder das »Roth aus Methylenblau« noch das Unna'sche polychrome Methylenblau mit Eosin die Romanowsky-Färbung gebe. Diese Beobachtung kann ich nicht bestätigen. Schon in meiner ersten Veröffentlichung über den Gegenstand habe ich darauf hingewiesen, dass das polychrome Methylenblau sowohl allein (dies allerdings nur bei den Jugendformen der Malariaparasiten), wie mit Eosin und zwar dann immer die Romanowsky-Färbung giebt. Auch das nach meinen Angaben gewonnene »Roth aus Methylenblau« macht bei den Jugendformen der Malariaparasiten einen rothen Kern sichtbar; bei Zusatz von »Roth aus Methylenblau« zu Eosin oder zu Eosinmethylenblaumischungen tritt der rothe Kern bei allen Blutparasiten zutage.

Nachdem zuerst Michaelis, der seinen Untersuchungen die klassische Arbeit von Bernthsen über das Methylenblau zugrunde gelegt hatte, darauf hingewiesen hatte, dass äusserst wahrscheinlich der wirksame Körper des »Roth aus Methylenblau« das Methylenazur sei, hat Giemsa auf Grund sehr sorgfältiger Prüfungen im Hamburger Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten diese Vermuthung zur Gewissheit erhoben und es ist ihm gelungen, das Methylenazur, einen sonst im Handel nicht erhältlichen und nach den bisher bekannten Methoden nur sehr schwierig rein darzustellenden, sehr kostspieligen Farbstoff, auf eine sehr einfache und billige Weise rein zu gewinnen, so dass er jetzt im Handel zu haben ist (bei Grübler in Leipzig).

Das Methylenazur bildet sich aus Methylenblau durch Einwirkung von Alkalien. Es kommt darauf an, geringe Mengen von Alkali bei nur mässig erhöhter Temperatur einwirken zu lassen; beim Kochen und beim Einwirken grösserer Mengen von Alkali fällt das Azur aus und muss dann erst wieder durch besondere Methoden isolirt und gelöst werden. Mit welchen Alkalien und in welchen Mengen man die Zersetzung des Methylenblau bewirkt, darauf kommt es nicht so sehr viel an. Es existiren hiefür eine grosse Menge Empfehlungen (von Zettnow, Ruge, Maurer, Feinberg, Reuter, Michaelis, mir selbst u. a.)

Neuerdings benutze ich mit Vorliebe 1%ige Methylenblaulösungen, die nach Laveran's Vorschlag mit Silberoxyd aufgeschlossen wurden. Silberoxyd kann man sich leicht selbst jederzeit aus Höllensteinlösungen durch Zusatz von Alkali niederschlagen. Der Niederschlag wird auf ein Filter gebracht, mit Wasser ausgewaschen und dann der Methylenblaulösung zugesetzt. Zu 100 Ccm. Methylenblaulösung (1%) füge man den aus 1 Grm. Höllenstein gewonnenen Niederschlag von Ag O. Nach 4—5tägigem Stehen im Zimmer ist die Lösung rothstichig, enthält sehr reichlich Azur und hat eine sehr grosse Färbekraft.

Es empfiehlt sich nicht, die Wirkung des Silberoxyds durch Erwärmen der Mischung beschleunigen zu wollen.

Auch durch Zusatz von Unna'schem polychromen Methylenblau zu einer gewöhnlichen Methylenblaulösung — 2 Theile 1%iger Methylenblaulösung, 1 Theil Unna'sche Lösung (v. Wasielewski) — erhält man Mischungen von grosser Färbekraft.

Die durch Silber aufgeschlossene Methylenblaulösung reagirt fast neutral, während die mit anderen Alkalien behandelten schwach, aber deutlich alkalisch reagiren. Dieser geringe Alkalescenzgrad hat aber keine praktische Bedeutung, erst stärkere alkalische Reaktion verzögert und verschlechtert die Färbung.

Michaelis stellt eine neutrale, stark methylenazurhaltige Methylenblaulösung her, indem er 200 Ccm. einer 1%igen Methylenblaulösung mit 10 Ccm. 1/10 Normalnatronlauge 1/4 Stunde lang kocht und nach dem Erkalten mit 10 Ccm. 1/10 Normalschwefelsäure wieder neutralisirt. Diese Lösung färbt sehr intensiv und rein; über ihre Haltbarkeit habe ich noch keine Erfahrungen.

Von den gebräuchlichen Methylenblaumarken scheint das Höchster Methylenblau am leichtesten zersetzlich zu sein, auch das Merck'sche Methylenblau liefert viel Methylenazur. Die meisten anderen Marken sind auch ganz gut zu verwenden. Von Eosin empfehlen sich die gelblichen Marken.

Ich benütze 1%ige wässerige Eosinlösungen, die ich vor dem Gebrauch 20—50fach mit Wasser verdünne. Ich setze hierauf soviel des azurhaltigen Methylenblau tropfenweise unter fortwährendem Umrühren zu, bis die ursprünglich rothe Eosinlösung, die durch den Zusatz der blauen Farbe von roth ins violett und schliesslich ins blau übergeht, genau so aussieht wie die benutzte, rothstichige Methylenblaulösung. Bei Benützung von ursprünglich 1%igen Methylenblaulösungen ist dazu nicht ganz die doppelte Menge im Vergleich mit der Eosinlösung nöthig, also z. B. 4 Tropfen Eosin, 20 Ccm. Wasser, 6—8 Tropfen blaue Lösung. Ein Ueberschuss der letzteren ist unschädlich. Ruge u. a. empfehlen, sich die Lösungen auszutitriren. Es entsteht nämlich beim Zusammengiessen der rothen und der blauen Lösung ein Niederschlag, der im Ueberschuss der Azurlösung zum grössten Theil wieder verschwindet. Ruge empfiehlt nun, bis zum Beginn der Ausfällung zu titriren (Häutchen auf der Oberfläche) und beim Färben dann nur den dritten Theil bis zur Hälfte Eosin zu verwenden. Ich halte das Titriren für überflüssig: man kommt, wenn man sich genau daran hält, dass immer soviel blaue Lösung zum Eosin zuzusetzen ist, dass die Mischung genau wieder so aussieht wie die ursprüngliche blaue Lösung, in jedem Falle zum Ziele.

Die Azurlösung ändert ihren Titer zur Eosinlösung, auch die Temperaturverhältnisse, der Grad der Verdünnung und das Tempo der Mischung scheinen bei der Bildung des Niederschlages in Betracht zu kommen und das erste Auftreten des Niederschlages ist oft schwer zu beobachten.

Es empfiehlt sich, die Farblösung in Blockschälchen auf die Präparate wirken zu lassen, weil die Deckgläschen darin mit der bestrichenen Seite nach unten liegen können; hierdurch wird vermieden, dass die bei längerer Einwirkung der Farblösung sich regelmässig bildenden Niederschläge sich zu fest an das Präparat ansetzen. Bei frischen, d. h. nicht über 3—4 Wochen alten Präparaten von Menschenblut ist die Färbung in 7—10 Minuten vollendet, in dieser kurzen Zeit bilden sich nie Niederschläge, die gefärbten Präparate präsentiren sich immer in vollendeter Reinheit und Schönheit. Aeltere Deckgläschen müssen vorher in Alkohol gelegt und dann mit Wasser gespült werden, wobei zu prüfen ist, ob sie sich mit Wasser gut benetzen, sie brauchen bis zur vollendeten Färbung bis zu 24 Stunden und werden übrigens nie so gut wie frische Präparate.

Die Farbmischung wirkt am sichersten bei Zimmertemperatur, gelindes Erhitzen fördert selten, Kochen ist schädlich.

Neuerdings hat Reuter den beim Zusammenbringen von azurhaltigen Methylenblaulösungen mit Eosin entstehenden Niederschlag abfiltrirt, gewaschen und in Alkohol gelöst. Wenige Tropfen dieser alkoholischen Lösung einem Blockschälchen voll Wasser, in dem sich das zu färbende Präparat befindet, zugesetzt, geben nach ca. 1stündiger Einwirkung prachtvolle Färbungen ohne jeden Niederschlag. Die Reuter'sche Farbe — ein Gemisch von Eosinazur und Eosinmethylenblau — ist im Handel (bei Grübler in Leipzig) zu haben. Diese Modifikation würde eine sehr willkommene Vereinfachung des Romanowsky'schen Verfahrens darstellen, wenn mit dem Reuter'schen Gemisch haltbare Lösungen herzustellen wären. Es fällt aber leider sowohl aus den alkoholischen wie aus den mit Methylalkohol unter Zusatz von Anilin hergestellten, etwas länger haltbaren Lösungen schon nach wenigen Wochen soviel wirksamer Farbstoff aus, dass der Rest der in Lösung verbleibenden Körper nicht mehr genügt, um die rothe Kernfärbung in den Blutparasiten hervorzubringen. Dies Versagen tritt schon zu einer Zeit ein, wo sich die Kerne der weissen Blutkörperchen noch sehr schön roth färben.

Die besten, zugleich fein differenzirten und doch intensiven Färbungen geben die Giemsa'schen reinen wässerigen Azurlösungen in Verbindung mit Eosin. Man benützt am zweckmässigsten eine 1‰ige wässerige Eosinlösung (gelblich) und eine 1‰ige wässerige Azurlösung. Man entnimmt zunächst 1 Ccm. Eosinlösung, setzt 10 Ccm. Wasser und dann 1 Ccm. Azurlösung zu und bringt die Präparate sofort in diese Mischung hinein. Die Färbung ist oft schon in wenigen Minuten, sicher nach 1 Stunde vollendet. Niederschläge sind nicht zu fürchten. Auch alte, für andere Färbungen unbrauchbare Präparate werden, nachdem sie in Alkohol benetzbar gemacht und dann reichlich mit Wasser abgespült sind, durch das Giemsa'sche Azureosingemisch noch sehr befriedigend gefärbt. Die alten Präparate müssen bis zu 24 Stunden im Gemisch liegen bleiben.

Nach dem Herausnehmen werden alle nach ROMANOWSKY gefärbten Präparate, einerlei welche Modifikation man benutzt hat, am besten in folgender Weise behandelt. Kräftiges Abspülen in Wasser, dann vorläufige Untersuchung in Wasser. Erscheinen die rothen Blutkörperchen in heller Nüance, so findet man leicht einen Blutparasiten, an dem man sehen kann, ob die Färbung gelungen ist. Präsentiren sich aber die rothen Blutkörperchen dunkelblau oder dunkelblauroth, was namentlich bei älteren Präparaten oft der Fall ist, so suche man sich einen grossen mononukleären Leukocyten, deren Anzahl bei menschlicher Malaria fast immer stark vermehrt ist. Ist der Kern des Leukocyten tief dunkelroth, so ist auch die richtige Färbung der Malariaparasiten vorhanden, und man braucht nur die überfärbten, rothen Blutkörperchen durch sekundenlanges Einwirken von verdünntem Alkohol aufzuhellen. Einwirkenlassen von Tannin, wie von LAVERAN empfohlen, halte ich für überflüssig, zum Theil sogar schädlich. Sind die Kerne der mononukleären Leukocyten blau, so ist die Färbung misslungen. Schliesslich werden die nochmals kräftig abgespülten Präparate zwischen Fliesspapier getrocknet und dann in Kanadabalsam montirt.

Man muss bei allen ROMANOWSKY-Färbungen sorgfältig darauf achten, dass der benutzte Kanadabalsam säurefrei oder wenigstens nahezu säurefrei ist, weil sonst die charakteristische Färbung sofort verloren geht. Dasselbe geschieht leicht, wenn man die Präparate zu lange über der Gasflamme trocknet. Gute Präparate aber halten sehr wohl gelindes Erhitzen aus. Im Zweifel thut man gut, sich zu gedulden, bis die Präparate an der Luft trocken geworden sind, und sie dann erst zu montiren. Beim Erhitzen der Präparate über der Gasflamme wird die rothe Kernfarbe zunächst dunkler, dann geht sie in blau über und schliesslich verschwindet sie ganz. Auch durch zu langes Einwirken von Alkohol geht die Färbung verloren.

In einem gelungenen ROMANOWSKY-Blutpräparate sind die rothen Blutkörperchen roth, nach längerer Dauer der Färbung, bei reichlichem Ueberschuss von Azur oder in älteren Präparaten erscheinen sie häufig blassgrau bis blassblau, was weder der Differenzirung ihrer Einschlüsse (Malariaparasiten), noch dem Erkennen basophiler Körnung, noch der Beobachtung von Polychromatophilie der Blutkörperchen Abbruch thut. Basophile gekörnte und polychromatophile, rothe Blutkörperchen findet man fast bei jedem Malariakranken in mehr oder weniger reichlicher Anzahl und auch noch lange in der Rekonvalescenz, wenn die Parasiten selbst nur noch äusserst spärlich oder gar nicht mehr im cirkulirenden Blut zu beobachten sind. Auch unter den rothen Blutkörperchen von mit protozoischen Parasiten inficirtem Thierblut bemerkt man diese Formen regelmässig, am häufigsten und deutlichsten bei mit Trypanosoma inficirten Ratten. Die mit Malariaplasmodien besetzten, menschlichen, rothen Blutkörperchen sind häufig grösser als die normalen, blasser und in anderem Ton gefärbt als die normalen. Bei Infektion mit Tertianparasiten zeigen die damit behafteten rothen Blutkörperchen regelmässig eine rothe, zuerst von MAURER beschriebene Tüpfelung, die durch ihre Farbe und gröbere Beschaffenheit deutlich von basophiler Körnung verschieden ist. Letztere tritt in blaurother bis blauer Farbe, und zwar nur bei nicht inficirten Blutkörperchen auf. Etwaige Erythrocytenkerne — kernhaltige Rothe findet man im allgemeinen nur selten bei Malaria, bei sehr schwerer chronischer Infektion kommen aber auch gelegentlich Megaloblasten zur Beobachtung — sind roth gefärbt. Die Malariaplasmodien selbst zeigen wie alle übrigen Blutparasiten einen rein blau gefärbten Leib mit einem oder mehreren intensiv rothen Kernbestandtheilen von sehr verschiedener Grösse, indem der rothe Körper von der Grösse eines Punktes oder Knöpfchens, das den jüngsten zarten, blauen Parasitenringen wie die Platte eines Siegelringes aufsitzt oder sich frei in ihrer Mitte befindet, mit

dem Aelter- und Grösserwerden der Parasiten heranwächst, bis er in den Mikrogametocyten fast den ganzen Leib in Gestalt eines feinen Fadengerüstes anfüllt. Besonders schöne Bilder geben die Theilungsformen, indem die noch in Form einer Gänseblume oder in Morulaform aneinander haftenden einzelnen, sehr kleinen Sprösslinge jeder in seinem blauen Leib einen sehr intensiv gefärbten, rothen Kern zeigt. Frei im Serum befindliche Malariaformen — bei menschlicher Malaria ein sehr seltener Befund — sind nur durch die ROMANOWSKY-Färbung mit Sicherheit zu erkennen. Die Frage, ob die Plasmodien den Blutkörperchen nur anhaften oder in ihnen sitzen, kann durch die ROMANOWSKY-Färbung nur soweit sicher entschieden werden, dass die Jugendformen sicher nur obenauf sitzen. Bei den Parasiten der Vogelmalaria hingegen befinden sich die Parasiten, wie man an der Verschiebung des Kernes der inficirten Blutkörperchen sehen kann, sicher innerhalb der rothen Blutkörperchen. Auch die Halbmonde der Tropika müssen bei gelungener Färbung zwischen dem Pigment ein rothes Kerngerüst erkennen lassen. Ebensowenig fehlt der rothe Kern den exogenen Entwicklungsformen der Malariaparasiten der Menschen und Vögel, den Mikrogameten, Ookineten und Sichelkeimen. Ueber den häufig um das rothe Kerngerüst ungefärbt bleibenden, hellen Hof vergl. o. pag. 783.

Die frischen Blutpräparate lassen bei der ROMANOWSKY-Färbung, namentlich bei der mit Mischungen von reinem Azur und Eosin ausgeführten, sämmtliche Einzelheiten auf einmal erkennen, die sonst nur bei Vergleich mehrerer, nach verschiedenen Methoden gefärbter Präparate festzustellen sind. Die ROMANOWSKY-Färbung ist also eine sogenannte pantoptische Färbung. Die polymorphkernigen, neutrophilen Leukocyten zeigen eine prachtvoll hochrothe, feine Granulirung und einen blauvioletten Kern. Ihre Kernfarbe ist durch einen blauen Ton immer deutlich verschieden von den Kernen der mononukleären, grossen Leukocyten und der Lymphocyten. Bei diesen färbt sich der Kern leuchtend roth. Durch geeignete Entfärbung lässt sich in vielen Präparaten der Gegensatz in der Kernfarbe so weit treiben, dass die Kerne der Neutrophilen rein blau, die der Mononukleären und Lymphocyten rein roth sich repräsentiren. Bei zarter Färbung sieht man in den einkernigen Zellen regelmässig in den Kernen ein intensiver gefärbtes Kernkörperchen, auch in den Kernen der polymorphen und zerfallenen Kernen der Neutrophilen heben sich einzelne Stellen durch besonders tiefe Färbung hervor. Bei den — meist vermehrten — grossen, mononukleären Elementen ist das umgebende Protoplasma blassblau, bei den Lymphocyten rein und tief blau. Im Protoplasma vieler grossen Einkernigen sieht man unregelmässig zerstreut einzelne rothe Körner — zuerst von MAURER erwähnt, nachher von MICHAELIS ausführlicher beschrieben. Einkernige mit dichter neutrophiler Körnung kommen im Malariablut nur in Fällen äusserst schwerer Anämie vor; sie zeigen neben dem rothen Kern und über denselben hinweg gestreut eine intensive hochrothe Granulation. Deutlich von dieser hochrothen Granulation der neutrophilen, einkernigen und mehrkernigen weissen Blutkörperchen verschieden ist die Färbung der eosinophilen Zellen. Bei kurzer Dauer und nicht zu grossem Ueberschuss von Methylenazur heben sich die eosinophilen Granulationen zart eosinfarben von den leuchtend hochrothen Kernen ihrer Zellen ab, bei längerer Dauer der Färbung oder reichlicherer Anwesenheit von Azur werden sie grau oder blau. Die Mastzellenkörnung zeigt sich durch grobe, dunkelrothe, unregelmässig vertheilte Körner bei sehr intensiver, rother Kernfärbung an. Die Blutplättchen sind blassblau mit zackigem Kontour und hochrothem Kerngerüst.

Die prachtvollen Bilder der ROMANOWSKY-Färbung sind den Blutpathologen, die sich nicht mit Malariafärbungen beschäftigen, leider noch viel zu wenig bekannt, die Methode verdient für die allgemeine Bluthistologie ebenso grosse Beachtung wie für die Parasitologie.

Wie der Farbstoff, auf dem die Leistungen der ROMANOWSKY-Färbung beruhen, als chemischer Körper beschaffen ist, wissen wir noch nicht. Seine besondere Leistung besteht erstens darin, dass er Kernbestandtheile und sonstige Formelemente, die andere Farbkörper nicht oder nur schwer annehmen, mit intensiver rother Farbe hervorhebt, dann dass er als neutraler Körper alle bekannten, neutrophilen Bildungen mit seiner charakteristischen, rothen Farbe kennzeichnet, und drittens darin, dass die neutrale, rothe Färbung nicht blos durch chemische Reagentien, sondern auch durch histologische Formelemente von verschiedener Beschaffenheit sehr leicht verändert wird. Vorläufig kennen wir von diesen Farbenveränderungen mit Sicherheit nur die acidophile und die basophile Blaufärbung, die sich sowohl im Farbenton, wie dadurch unterscheiden, dass die acidophile Blaufärbung sehr langsam eintritt, während die basophile der neutralen Rothfärbung meist vorangeht und durch Entfärbung mit Alkohol verstärkt wird. Es sind jetzt hier Untersuchungen im Gange, welche die Aussicht

eröffnen, dass die neutrale Azurfärbung auch als mikrochemische Reaktion eine allgemeine Bedeutung gewinnen wird.

Das Eosin wirkt bei der ROMANOWSKY-Färbung nicht als Farbe, sondern als chemischer Körper. Man kann das Eosin dabei überall durch seine einfacheren Vorstufen, Fluorescin (Fluorescinkalium) und Resorcin ersetzen. Auch Hydrochinon und Brenzkatechin geben mit Azur die ROMANOWSKY'sche Färbung, was theoretisch von grossem Interesse ist.

Die Färbung der Malariaplasmodien sowie anderer Blutparasiten in Schnitten erfolgt am besten mit Hämatoxylin (BÖHMER) nach den sonst üblichen Methoden.

Ausstrichpräparate der Malariaparasiten aus dem Mückenkörper werden wie Blutpräparate gefärbt.

Litteratur: ROSIN und BIBERGEIL (Deutsch. med. Woch., 1892), R. KOCH (ebenda, 1900), ROMANOWSKY (St. Petersburg. med. Woch., 1891), ZIEMANN (Ueber Malaria und andere Blutparasiten, Jena 1898), NOCHT (Centr. Bakt., Bd. 25, 1899), FEINBERG (Deutsch. med. Woch., 1902), v. WASILIEWSKI (Zeit. Hyg., Bd. 33, 1900), ZETTNOW (ebenda, Bd. 30, 1890), ROSIN (Berl. klin. Woch., 1899), RUGE (Zeit. Hyg., Bd. 33, 1900), derselbe (Deutsch. med. Woch., 1900), derselbe (Einführung in das Studium der Malariakrankheiten, Jena 1901. G. FISCHER), MAURER (Centr. Bakt., Bd. 28, 1900), SCHÜFFNER (Deutsch. Arch. klin. Med., Bd. 64, 1899), derselbe (ebenda, Bd. 71, 1901), REUTER (Centr. Bakt., Bd. 30, 1901), MICHAELIS (Centr. Bakt., Bd. 29, 1901), derselbe (ebenda, Bd. 30, 1901), derselbe (VIRCH. Arch., Bd. 163, 1901), LAVERAN (C. r. Soc. Biol., 1900), ARGUTINSKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 59), GIEMSA (Centr. Bakt., Bd. 31, 1902) *Nocht,* Hamburg.

Maltase siehe Enzyme.

Malzauszug siehe Enzyme.

Manchesterbraun, Syn. für Bismarckbraun (Cassella und englische Fabriken).

Manchestergelb, Syn. für Martiusgelb.

Mandarin G extra, Syn. für Orange II (Berlin).

Manganchlorür: $MnCl_2 + 4H_2O$, hellrothe, krystallinische und sehr zerfliessliche Masse. Bei gewöhnlicher Temperatur zu ca. 65% mit grüner Farbe in Wasser und zu 50% in absolutem Alkohol löslich.

Von PICTET ist eine 5—10%ige wässerige Lösung von Manganchlorür mit etwas Dahliazusatz als Untersuchungsmedium für Seethiere empfohlen worden. Für Landthiere soll man nach LEE nur 1—3% nehmen.

Litteratur: PICTET (Mitth. zool St. Neapel, Bd. 10, 1891), LEE und MAYER (Grundzüge).

Markirapparat siehe Finder.

Markscheide siehe Nervenfaser.

Martiusgelb, Syn. Manchestergelb, Naphtolgelb; Nitrofarbstoff, erhalten durch Behandlung von α-Naphtoldisulfosäure mit Salpetersäure: $C_{10}H_5(NO_2)_2 . ONa + H_2O$. Gelbes, in Wasser zu 2—3%, in Alkohol leichter lösliches Pulver. Die wässerige Lösung giebt mit Salzsäure einen Niederschlag von Dinitronaphtol.

Dieser der Pikrinsäure nahestehende Farbstoff ist ungiftig. Er dient hauptsächlich in der Mikrophotographie zur Herstellung von Lichtfiltern.

Maskenlack, eine Firnissorte, die in Alkohol löslich ist und schnell eintrocknet. Nach FOL werden vom Maskenlack manche, namentlich glycerinhaltige Einschlussmedien angegriffen, so dass das Präparat alsdann verdirbt. Wenn der Lack zu fest geworden ist, ist er mit absolutem Alkohol zu verdünnen.

Litteratur: FOL (Lehrbuch). *Mosse,* Berlin.

Mastix, aus der Rinde der auf Chios heimischen Pistacia lentiscus gewonnen. Gelbliche, spröde Körner, die aus einem Terpen, dem indifferenten

Masticin und der Mastixsäure bestehen. Er schmilzt bei 100—183° und ist völlig löslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Amylalkohol, theilweise in Benzol, Petroleumäther, Aceton, Terpentin und Schwefelkohlenstoff. Die alkoholische Lösung reagirt sauer. Brechungsexponent bei 17° 1,535.

Der in der Technik zum Herstellen von Lacken, Firnissen, Kitten vielfach verwendete Mastix dient in der Mikrotechnik in Verbindung mit Kollodium, um brüchige Schnitte zusammenzuhalten. Heider vermischt eine syrupdicke ätherische Lösung von Mastix mit Kollodium, verdünnt vor dem Gebrauch stark mit Aether und überstreicht vor jedem Schnitt die Fläche des Paraffinblocks mit der Lösung. Der Ueberschuss wird mit dem Finger fortgewischt.

Litteratur: Heider (Die Embryonalentwicklung von Hydrophilus, Jena 1889).

Mastzellen. Unter dem Namen »granulirte oder Mastzellen« sonderte Ehrlich [1]) im Jahre 1879 aus der grossen von Waldeyer 1875 [2]) aufgestellten Gruppe der Plasmazellen diejenigen Zellen aus, die sich durch ihr reich gekörntes Protoplasma und durch ihr auffallendes Verhalten gegen Anilinfarbstoffe scharf als eine besondere Art kennzeichnen.

Die Berechtigung dieser Abtrennung ist allgemein, besonders auch von Waldeyer selbst, anerkannt worden, und ebenfalls fand die Bezeichnung »Mastzellen« allgemein Eingang, auch in der ausländischen Litteratur. Audry allerdings braucht daneben auch den Ausdruck Cellules isoplastiques.

Den Namen »Mastzellen« hatte Ehrlich gewählt, weil er der Ansicht war, dass sie vermehrt aufträten, nicht nur bei chronischen Entzündungszuständen, sondern auch bei einem lokal gesteigerten Ernährungszustande, und dass sie demgemäss gewissermassen als ein Produkt der Mästung der Bindegewebszellen anzusehen seien.

An der Berechtigung dieser Ansicht sind allerdings später Zweifel aufgetaucht.

Audry [3]) nimmt an, dass alle im Bindegewebe vorkommenden Zellen sich in Mastzellen verwandeln können, sogar auch z. B. Leukocyten; nach der Ansicht fast aller übrigen Autoren sind die Mastzellen dagegen nur als eine besondere Zellenart des Bindegewebes anzusehen, hervorgegangen aus den fixen Bindegewebszellen.

Die Form der Mastzellen ist sehr wechselnd, theils sind sie kugelförmig, theils platt, theils eckig, theils spindelförmig mit bisweilen sehr langen Ausläufern u. s. w.

Auch ihre Grösse ist verschieden; die kleinsten sind etwa so gross wie ein weisses Blutkörperchen.

Ausser im Bindegewebe sind sie regelmässig, wenn auch äusserst spärlich im normalen Blut anzutreffen; im Epithel findet man sie wohl nur bei pathologischen Veränderungen und unter Umständen, welche ihren Transport aus den erweiterten Lymphbahnen des Bindegewebes erkennen lassen.

Sie sind ausgezeichnet durch ihren Reichthum an stark granulirtem Protoplasma, dessen Körnchen, die Ehrlich auch γ-Granula genannt hat, sehr ungleichmässig vertheilt und von sehr verschiedener Grösse sind; doch erreichen die grössten nur selten den Durchmesser von 1 μ (Rabl [4]).

Die Körner zeigen grosse Verwandtschaft zu den basischen Anilinfarben, worüber später noch Genaueres, und zwar färben sie sich meistens metachromatisch, d. h. in einer von dem angewandten Farbentone abweichenden Nuance. Derartig gefärbte Körnerhäufchen werden häufig auch ausserhalb der Mastzellen gefunden, sie bezeichnen gleichsam wie Schneckenschleim den Weg, den die Mastzelle gekrochen.

Der mittelgrosse ovale Kern wird je nach der Methode der Darstellung gar nicht oder in dem ursprünglichen Farbentone gefärbt.

Ueber die Natur der Körner sind verschiedene Ansichten laut geworden. Dass es sich nicht um Fett handeln könne, beweist Ehrlich [5]) mit verschiedenen Gründen.

Raudnitz [6]) hält die Mastzellen für mucinös degenerirte Elemente, während Nordmann [7]) sich dagegen wendet und auch bestreitet, dass die Körner Amyloid seien.

Hoyer [8]) neigt sich der Raudnitz'schen Ansicht zu, wenn er auch eine völlige Identität der Körnchen mit Mucin nicht absolut behaupten will. Er giebt aber an, dass die Mastzellen die gleichen metachromatischen Erscheinungen zeigen, wie das Mucin, sowie dass die Färbung der Granula völlig mit der Färbung der mucinreichen Drüsenelemente übereinstimmt. Dass in den Zellen scharf begrenzte Körnchen durch die Färbung hervortreten, in den Drüsenelementen dagegen farbige Netze, spricht nach ihm nicht dagegen, da das Mucin verschiedene, wenn auch verwandte Stoffe enthalten müsse, und zwar mindestens zwei, einen gallertartigen, quellungsfähigen, und einen zweiten, der grosse Verwandtschaft zu den basischen Farbstoffen zeige und sich in den Mastzellen vielleicht in Form von Körnchen oder selbst Krystallen abscheiden könne.

Ehrlich selbst hält nach Hoyer an der gesonderten Natur der Granula fest: Er hat zuweilen ein krystallinisches Aussehen derselben wahrgenommen, was doch wohl eine Identität mit dem kolloiden Mucin ausschliesst (vergl. dagegen die Hoyer'sche Ansicht) und findet auch eine grosse Widerstandsfähigkeit derselben gegen Wasser, in welchem Mucin bedeutend aufquillt (citirt in der Hoyer'schen Arbeit aus brieflichen Mittheilungen).

Pappenheim (mündliche Mittheilung) glaubt ebenfalls nicht, dass die Körner Mucin oder Pseudomucin seien, weil sie sich weder mit Hämatoxylin noch dem P. Mayer'schen Muchämatin und Mucikarmin färben.

Hoyer hat allerdings Färbung durch alaunhaltiges Hämatoxylin erzielt, ebenso Raudnitz. Rabl giebt an, dass die Granulationen mit Delafield-schem Hämatoxylin darstellbar seien, während sie von Hämalaun nicht gefärbt werden.

Durch ihr eigenthümliches Verhalten gegen Anilinfarbstoffe scheinen die Mastzellen geeignet zu sein, über die physiologische Bedeutung der Zellenkörnelung überhaupt Aufschluss zu geben.

So sieht man zuweilen, dass die Mastzellengranulation sich innerhalb der Zellen auflöst und in gelöster Form in den Kern diffundirt (Ehrlich und Lazarus: »Die Anämie«).

Ferner sind von Ehrlich, Unna und anderen eigenthümliche Höfe gesehen, die bei der Färbung ebenfalls den metachromatischen Farbenton annehmen und die Mastzellen entweder wie eine Wolke mit unscharfer Begrenzung oder wie eine endotheliale Auskleidung der benachbarten Lymphspalte mit scharfen Grenzen umgeben.

Diese Beobachtungen sprechen sehr für die Ehrlich'sche Annahme, dass die Granula als Stoffwechselprodukte der Zellen anzusehen sind, die dann bei diesen Beispielen in den Kern oder die Umgebung secernirt wären.

Auch Lavdowsky [9]), der solche Höfe am frischen Präparat der Froschzunge gesehen hat, sieht sie an als eine Folge des chemotropischen Austausches in den Virchow'schen Zellterritorien.

Ueberhaupt muss man sich nach Unna mit dem Gedanken vertraut machen, dass die metachromatische Substanz nicht blos in Gestalt von Ehrlich's γ-Körnern vorkommt, sondern unter Umständen auf weite Strecken hin in diffuser Weise das kollagene Gewebe durchtränkt, so hauptsächlich bei Karcinomen.

Im menschlichen Körper sind die Mastzellen normal in vielen Regionen anzutreffen.

So in der Haut, in der sie nach NEUBERGER[10]) spärlich im kern- und zellarmen Bindegewebe, zahlreich hingegen in der Umgebung der Haarbälge, der Talg- und Schweissdrüsen zu finden sind. Auf Schnitten der Haut sieht man sie am reichlichsten im Papillarkörper und im Subkutangewebe, spärlicher in der eigentlichen Lederhaut.

Ferner sind Mastzellen im Herzmuskel, in der Lunge, in der Leber, in der Darmwand, im Hoden, in den peripheren Nerven, im Knochenmark u. s. w. konstatirt worden.

Auch im normalen Blut sind sie vorhanden, wenn auch äusserst spärlich, höchstens 0,5% der weissen Zellen, und zwar kommen sie in das Blut aus dem Knochenmark (EHRLICH und LAZARUS a. a. O.).

PAPPENHEIM[11]) unterscheidet übrigens zwischen histiogenen und hämatogenen Mastzellen: Die ersteren sind einkörnig, haben einen voluminösen Zellleib und reichliche kleine Körnung, die letzteren sind polynukleär und klein, haben sehr grobe Körnelung und wenig Protoplasma.

Auch MICHAELIS[12]) erklärt Bindegewebsmastzellen und Blutmastzellen für nicht identisch.

Beim Menschen fehlen die Mastzellen in der ersten Jugend nach Ansicht der meisten Beobachter, nur AUDRY hat sie beim Neugeborenen gefunden, und zwar im Haarboden des Kopfes.

Das Lebensalter, in dem sie auftreten, ist für die verschiedenen Organe verschieden. So fehlen sie nach MÜNCHHEIMER[13]) im Hoden von Föten und ganz kleinen Kindern. Spärlich wurden sie daselbst bei einem Kinde von 4 Monaten gefunden und reichlich bei allen Individuen von mehr als 2 Jahren bis ins höchste Alter.

Im Nerven dagegen bilden sie sich nach ROSENHEIM[14]) erst jenseits des 5. Lebensjahres, sind spärlich während der Blüthezeit des Lebens und ausserordentlich zahlreich im Alter.

Unter pathologischen Verhältnissen sind sie, event. in vergrösserter Anzahl, ausserordentlich häufig beobachtet, so bei Rhinosklerom, bei Urticaria pigmentosa, bei Rhinophym, bei Cavernitis, Vitiligo, Elephantiasis, Mycosis fungoides, Lupus, bei Epitheliomen, Papillomen, bei Fibrosarkom, Karcinom, Uterusmyom, spitzem Kondylom, Plaques muqueuses, tertiärer Hodensyphilis, alter Urethritis, Narbenkeloid, peripherer Neuritis, bei progressiver Paralyse in der Wand der Kortikalgefässe, bei brauner Induration der Lunge, im Exsudat von Leukämischen, im Blute Leukämischer, ferner neuerdings von WOLFF[15]) im Exsudat einer nicht leukämischen Person u. s. w.

In eiterigen und mukösen Sekreten sind sie nach NEUBERGER sehr selten; demgegenüber ist es interessant, dass NEISSER einen Fall von Gonorrhoe beobachtet hat, in welchem das eitrige Sekret ausschliesslich aus Mastzellen bestand (angeführt in EHRLICH und LAZARUS: die Anämie).

Der Werth der Mastzellen für die pathologisch-anatomische Diagnose ist nach dem Gesagten ziemlich gering anzuschlagen. Wichtig ist in dieser Beziehung wohl nur der von UNNA zuerst beschriebene Mastzellentumor bei Urticaria pigmentosa, dessen pathognomonische Bedeutung auch von RAYNAUD, BÄUMER[16]) u. a. anerkannt wurde, und besonders die regelmässige Vermehrung der Mastzellen im Blut bei der myelogenen Leukämie (EHRLICH und LAZARUS).

Umgekehrt misst AUDRY[3]) ihrem Fehlen »vorläufig und provisorisch« nur beim weichen Schanker einen muthmasslichen Werth bei.

Bei Thieren ist die Menge und Verbreitung der Mastzellen ausserordentlich verschieden.

WESTPHAL[17]) fand sie am spärlichsten beim Kaninchen, Hasen, Meerschweinchen, Truthahn, Taube, ziemlich zahlreich bei Ziege, Hund, Kalb, Fledermaus, Ratte und in ausserordentlicher Menge beim Frosch und Triton.

Im Blut kommen sie nach WESTPHAL bei niederen Thieren, Frosch, Triton, Schildkröte reichlich vor.

In den Muskeln sind sie im allgemeinen spärlich vorhanden, nur in der Zunge reichlich, besonders bei der Fledermaus. Beim Kaninchen und Hasen fehlen sie daselbst. In der Lunge sind sie reichlich beim Schwein und Hammel.

In der Leber des Kaninchens fehlen sie, während WESTPHAL, dem ich diese Angaben entnehme, sie zahlreich in der Leber des Schweines gefunden hat, und zwar nicht nur in den bindegewebigen Septis, sondern auch in den angrenzenden peripheren Zellenreihen der Leberläppchen. Bei der Ziege sind sie auch in den centralen Partien der Acini zu finden, bei Hund und Meerschwein nur in den Bindegewebshüllen der grösseren Gefässe und Gallengänge.

Auch in dem Pankreas eines jungen Hundes sind sie konstatirt, ferner bei vielen Thieren im Darm, anliegend den LIEBERKÜHN'schen Drüsenschläuchen, sowie bei Ziegen und Hund in den Lymphdrüsen.

Ihr Vorkommen im Hoden ist besonders eingehend von MÜNCHHEIMER[13]) studirt, der sie bei Pferd, Ratte, Stier, Schwein vorfand, sie aber bei Reh, Hammel, Hund, Kaninchen, Meerschweinchen, Kalb, Ferkel vermisste.

Was nun die Darstellungsmethoden angeht, so scheint die Alkoholhärtung allgemein bevorzugt zu werden.

Zur Färbung hatte sich EHRLICH zuerst einer Mischung von Alkohol absol. 50, Aq. 100, Acid. acet. gl. $12^1/_2$ bedient, die mit Dahlia fast gesättigt wurde. Danach Entwässerung in Alkohol, Untersuchung in verharztem Terpentin.

Auch Primula, Jodviolett, Methylviolett, Purpurin, Safranin und Fuchsin wurden von EHRLICH benutzt, sämmtlich in einer Lösung, die auf $7^1/_2$ Eisessig 150 Alk. à tiers enthielt.

WESTPHAL[17]) empfiehlt besonders die violetten Farbstoffe unter den basischen Anilinfarben (Methylviolett, Jodviolett, Gentianaviolett, Dahlia), weil sie die Fähigkeit der metachromatischen Färbung haben, d. h. verschiedene Elemente in einer von der Grundfarbe abweichenden Farbennuance tingiren.

Die oben erwähnte EHRLICH'sche Dahlialösung färbt nur die Mastzellen, und zwar mit einem röthlichen Farbenton; alle anderen Gewebstheile bleiben farblos oder werden nur schwach gefärbt.

Um auch sämmtliche Kerne mitzufärben, schlägt WESTPHAL folgende Mischung vor:

100 Ccm. Karmin von PARTSCH-GRENACHER, 100 Ccm. Glycerin, 100 Ccm. stark dahliahaltigen absoluten Alkohol, 20 Ccm. Eisessig. Nach 24 Stunden sind sämmtliche Kerne schön roth tingirt, die Mastzellen blauviolett.

Von anderen Autoren wurden später andere Farben angewandt, z. B. von NORDMANN das Phenylbraun, von HOYER das von EHRLICH empfohlene Thionin, ferner Jodgrün, Methylgrün, Methylenblau u. s. w.

In einer 1891 von VAN DER SPECK und UNNA[18]) erschienenen Arbeit werden die Agentien zusammengestellt, die zur Entfärbung der mit stark alkalischer Methylenblaulösung (Methylenblau 1,0, Kal. caust. 0,05, Aq. 100) behandelten Mastzellen geeignet sind. Es sind folgende:

A. Physikalische Agentien: 1. Glykol, 2. Kreosol, 3. Styron, 4. H_2O neutral und Alkohol.

B. Chemische Agentien: 5. durch Reduktion und Alkohol: *a)* Resorcin, *b)* Hydrochinon, *c)* Phenylhydrazin, *d)* Anilin; 6. Säure und Alkohol: *a)* arsenige Säure, *b)* Osmiumsäure; 7. Salze und Alkohol: *a)* Kochsalz, *b)* Seife, *c)* Hydroxylamin, *d)* Ichthyol, *e)* Kal. arsen.

Bei dieser Darstellung sind die Körner der Mastzellen roth, die Kerne blau gefärbt.

Später empfahl Unna[19]) sein polychromes Methylenblau, durch welches die Mastzellenkörner roth, die übrigen Gewebstheile theils blau, theils violett gefärbt werden, und zwar distinkt ohne irgend welche Uebergänge.

Will man, um alle vereinzelten Mastzellenkörner zu konstatiren, das übrige Gewebe recht schwach färben, so kann man ebenfalls die Färbung mit polychromem Methylenblau anwenden; man schwächt aber dann die Farblösung durch Alaun ab oder man entfärbt durch unverdünnte Glycerinäthermischung.

Unna giebt danach folgendes Schema an:

I.

Metachromatische Färbung der Mastzellen neben Plasmazellen und Protoplasma überhaupt:

a) 1. Färbung in polychromer Methylenblaulösung (Grübler) $^1/_4$ Stunde bis eine Nacht.

2. Entfärbung in einer Mischung von einigen Tropfen Glycerinäthermischung mit einem Schälchen Wasser.

3. Gründliches Abspülen in Wasser.

4. Alkohol absolutus, Bergamottöl, Balsam.

b) 1. Färbung in polychromer Methylenblaulösung 5—15 Minuten.

2. Abspülung in Wasser.

3. Entfärbung und Entwässerung in $^1/_4$%iger spirituöser, neutraler Lösung von Orceïn (Grübler) ca. $^1/_4$ Stunde.

4. Alkohol absolutus, Oel, Balsam.

II.

Isolirte metachromatische Färbung der Mastzellen in sehr schwach gefärbtem Gewebe.

a) 1. Färbung in polychromer Methylenblaulösung mit Zusatz von einer Messerspitze Alaun auf ein Schälchen Farblösung, 3 Stunden bis eine Nacht.

2. Abspülen in Wasser.

3. Alkohol absolutus, Oel, Balsam.

b) 1. Färbung in polychromer Methylenblaulösung $^1/_4$ Stunde.

2. Abspülen in Wasser.

3. Entfärben in Glycerinäthermischung 5—10 Minuten.

4. Langes Abspülen in Wasser.

5. Alkohol absolutus, Oel, Balsam.

Neuerdings scheint diese Unna'sche Methode wegen ihres scharfen und angenehmen Farbenkontrastes die anderen Methoden etwas in den Hintergrund zu drängen.

Wie aus dem Gesagten hervorgeht, werden zur Färbung der Mastzellen allgemein basische Anilinfarben angewandt. Die Körner sind also offenbar basophil, und zwar lässt sich darüber nach Pappenheim[20]) etwa Folgendes aussagen.

1. Die Körner sind basophil. Dies geht natürlich in erster Linie aus der Kombinationsfärbung mit neutralen Gemischen hervor, indem sie die basische Komponente auswählen.

2. Die Körner haben stärkere Basophilie als der Kern, ähnlich wie das Protoplasma der Lymphocyten und Plasmazellen, d. h. bei singulärer Färbung mit einem basischen Farbstoff färben sich die Körner intensiver als der Kern. Eine Sonderstellung nimmt das chemisch reine Methylgrün ein, das nur Kerne färbt.

3. Die Körner sind von absoluter Basophilie, d. h. nur mit basischen Farben bei singulärer Färbung tingibel, während alle sonstigen histologischen Substrate bei singulärer Färbung sowohl mit basischen als mit sauren Farben färbbar sind.

4. Die Körner sind von sehr starker Basophilie, insofern als sie den basischen Farbstoff sogar gegenüber sauren Differenzirungsmitteln festhalten, beziehungsweise den basischen Farbstoff auch aus einer stark angesäuerten Farbflotte aufnehmen (vergl. Ehrlich's Dahlia-Essigsäuregemisch).

Ueber das sonstige chemisch-tinktorielle Verhalten der Mastzellenkörner entnehme ich Pappenheim noch Folgendes:

1. Die Färbung ist glycerinunecht. Bei Behandlung des gefärbten Substrates mit Glycerin diffundirt die Färbung in den Kern hinein. Jetzt ist der Kern stärker gefärbt als die plasmatische Substanz. Es ist eine »Inversion« entstanden (Ehrlich).

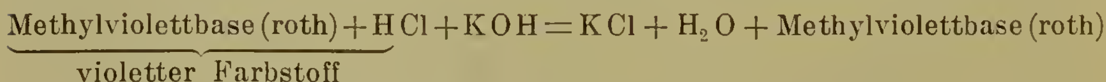
2. Bei Färbung mit Alaunhämatoxylin erscheint die Mastzellenkörnung negativ gefärbt, d. h. die Granula bilden helle ungefärbte Lücken im gefärbten Protoplasma (vergl. dagegen Hoyer und Raudnitz). Sie sind dann nachträglich mit basischen Farbstoffen nicht mehr tinktoriell darstellbar.

3. Die Mastzellenkörner verhalten sich metachromatisch gegenüber allen violetten basischen Anilinfarben (Methylviolett, Oxonin, Thionin, Kresylechtviolett, Toluidinblau, Amethystviolett, Neutralviolett), indem sie sich roth färben — fast rein braun bei Anwendung von Kresylviolett R (Extra) Farbwerke Mühlheim (Dr. Morgenroth) —, und gegenüber den meisten rothen basischen Farbstoffen (Pyronin, Amidinroth, Neutralroth, Saffranin), indem sie sich gelb färben.

Mit Methylgrün, das sonst nur Kerne färbt, färben sie sich nur dann, wenn es mit Methylviolett verunreinigt ist, und zwar röthlich, während Safranin, das mit Amethystviolett verunreinigt ist, die Körner in einem bläulichen Farbentone färbt, statt wie gewöhnlich gelblich.

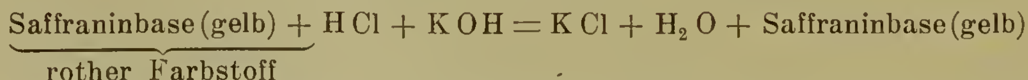
Zur Erklärung der metachromatischen Färbung der Mastzellenkörner, sowie des Mucins und Pseudomucins könnte man Witt's Hypothese der starren Lösungen heranziehen, nach der die Metachromasie auf der verschiedenen Natur der physikalischen Lösungsmittel beruht (z. B. Jod in Wasser gelbe, in Chloroform violette Lösung; Kresofuchsin in Wasser rothe, in Alkohol blaue Lösung). Man könnte dann einfach annehmen, dass ein und derselbe Farbstoff mit den γ-Granulis z. B. eine rothe, mit den Kernen u. s. w. eine violette Bindung giebt.

Nach Pappenheim ist der Vorgang etwas komplicirter. Er beruft sich darauf, dass im Reagensglase die Karbinolbase des Farbstoffes durch freies Alkali in Freiheit gesetzt wird, in Formeln ausgedrückt:



$$\underbrace{\text{Methylviolettbase (roth)} + HCl}_{\text{violetter Farbstoff}} + KOH = KCl + H_2O + \text{Methylviolettbase (roth)}$$

oder



$$\underbrace{\text{Saffraninbase (gelb)} + HCl}_{\text{rother Farbstoff}} + KOH = KCl + H_2O + \text{Saffraninbase (gelb)}$$

Nach ihm übernehmen die Mastzellenkörner die Rolle des Alkali (des KOH der Formeln), spalten die Karbinolbase ab und gehen dann mit ihr eine physikalische Bindung ein.

Dagegen macht Unna geltend, dass, wenn Bindung einer freien Base vorläge, nachträgliche Behandlung des gefärbten Substrats mit Säuren Violettfärbung der rothen, Rothfärbung der gelben Granula erzeugen müsste, oder Entfärbung, während die Mastzellen sich bekanntlich gerade durch ihre Säurefestigkeit auszeichnen.

Auffallend ist es übrigens schon, dass bei der von Pappenheim angenommenen Alkalescenz der Mastzellengranula eine Färbung derselben mit sauren Farben nicht möglich ist.

Ob diese Einwände berechtigt sind, lässt sich nach Pappenheim, der zwischen freier Alkalescenz und innerer Oxyphilie unterscheidet, zur Zeit nicht bestimmen.

Hinsichtlich der Färbung mit polychromem Methylenblau stehen fast alle Autoren auf dem Standpunkt, dass es sich hierbei nicht um eine einfache Metachromasie handelt, sondern um eine Elektion, insofern als in der Farblösung zwei Farbstoffe enthalten sind, ein blauer und ein rother, von denen die γ-Granula den rothen auswählen. Pappenheim[21]) dagegen ist der Ansicht, dass durch die Alkalibehandlung des Methylenblau Methylenviolett entsteht, dessen rothe Karbinolbase durch die γ-Granula in Freiheit gesetzt wird und die Metachromasie in der oben erklärten Art bewirkt.

Er leugnet, dass eine freie rothe Karbinolbase als solche oder gar das Farbsalz Methylenroth in dem Farbengemisch vorhanden ist.

Neuerdings macht Michaelis (a. a. O.) darauf aufmerksam, dass die Körner der Mastzellen bei myelogener Leukämie ausserordentlich wasserlöslich sind und seine mir in liebenswürdiger Weise übersandten Präparate sprechen allerdings überzeugend dafür.

Nach ihm soll man die mit Hitze oder Alkohol fixirten Präparate einige Minuten in einer gesättigten Lösung von Thionin in 50%igem Alkohol färben, den Farbstoff kurz mit 50%igem Alkohol abspülen, trocknen und in Kanadabalsam einlegen.

Auch Einbetten in Paraffin schädigt nach Michaelis die leukämischen Mastzellen.

Diejenigen des normalen Blutes sind widerstandsfähiger gegen Wasser, ebenso die meisten Bindegewebsmastzellen.

Ausnahmen kommen nach ihm aber auch im Bindegewebe vor, und auch Einbettung in Paraffin oder Celloidin kann hier schädigend wirken.

Zu erwähnen ist übrigens, dass nach Unna[22]) auch gewisse Salzlösungen, besonders Kochsalzlösung die Mastzellenkörnung auflösen.

Litteratur: 1) Ehrlich (Verh. phys. Ges. Berlin, 1879), 2) Waldeyer (Arch. mikr. Anat., Bd. 11, 1875), 3) Audry (Mon. prakt. Derm., Bd. 22, 1896), 4) H. Rabl (in Mraček, Handbuch der Hautkrankheiten, 1901). 5) Ehrlich (Arch. mikr. Anat, Bd. 13, 1877), 6) Raudnitz (ebenda, Bd. 22, 1883), 7) Nordmann (Int. Mon. Anat. Histol., Bd. 2, 1885), 8) Hoyer sen. (Arch. mikr. Anat., Bd. 36, 1890), 9) Lavdowsky (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), 10) Neuberger (Verh. d. 65. Vers. deutsch. Nat. Aerzte in Nürnberg), 11) Pappenheim (Virch. Arch., Bd. 166, 1901), 12) Michaelis (Münch. med. Woch., 1902), 13) Münchheimer (Fort. Med, 1895), 14) Rosenheim (Arch. Psych., Bd. 17, 1886), 15) A. Wolff (Münch. med. Woch., 1902), 16) Bäumer (Arch. Derm. Syph., Bd. 34, 1896), 17) Westphal (Inaug. Diss. Berlin, 1880), 18) van der Speck und Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 13, 1891), 19) Unna (ebenda, Bd. 19, 1894), 20) Pappenheim (Grundriss der Farbchemie, Berlin 1901), 21) derselbe (Sitz. des ärztlichen Vereins zu Hamburg, biol. Sect. 1901), 22) Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 33, 1901).

Bargum, Altona.

Mauveïn, Syn. Mauve, Rosolan, Anileïn, Violeïn. $C_{27} H_{24} N_4 HCl$, der erste fabrikatorisch dargestellte Anilinfarbstoff (Perkin, 1856, Oxydation von toluidinhaltigem Anilinöl mittels Bichromat und Schwefelsäure), gegenwärtig nur noch in England und Frankreich wenig benutzt. Rothe Paste, die in kaltem Wasser gar nicht, in heissem Wasser schwer, leichter in Alkohol löslich ist. In Schwefelsäure mit grüner Farbe löslich. Die wässerige Lösung giebt mit Natronlauge violetten Niederschlag.

Medusen siehe Coelenteraten.

Meeresalgen, über ihre Kultur vergl. Artikel Algen. Zur Fixirung hat sich ganz allgemein Flemming'sche Lösung mit gleichen Theilen Seewasser verdünnt bewährt.

Meissner'sche Körperchen finden sich in den Kutispapillen des Menschen und der Affen, und zwar am zahlreichsten in den Ballen der

Finger und Zehen. Zu ihrer Darstellung eignen sich die verschiedenen Vergoldungsmethoden (Löwit, Ranvier, Näheres siehe Goldmethoden) und in hervorragender Weise die vitale Methylenblaufärbung. Zu letzterem Zweck schneidet man von den erwähnten Stellen dünne Scheibchen der Haut ab und färbt sie auf dem Objektträger oder im Uhrschälchen mit Methylenblau. (Näheres siehe Methylenblau zur vitalen Nervenfärbung.) Sehr schöne Nervenfärbung erhielten wir auch in einem Fall beim Affen durch Injektion einer 1%igen wässerigen Methylenblaulösung in die Art. axillaris. Nach 1 Stunde wurden dünne Scheibchen von den Fingerballen mit dem Rasirmesser abgeschnitten und in der feuchten Kammer der Luft ausgesetzt. Fixation nach Bethe. Nachfärbung der Paraffinschnitte in Karmalaun.

Litteratur: E. Fischer (Arch. mikr. Anat., Bd. 12, 1876), Langerhans (ebenda, Bd. 9, 1873), Merkel (ebenda, Bd. 11, 1875), derselbe (Ueber die Endigungen der sensiblen Nerven in der Haut der Wirbelthiere, Rostok 1880), Meissner (Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Haut, Leipzig 1853), R. Wagner (Arch. Anat., 1852), W. Krause (Die terminalen Endkörperchen der sensiblen Nerven, Hannover 1860).

Membranen, pflanzliche, siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Mennige, Minium, Plumbum oxydatum rubrum, $Pb_3 O_4$, wohl als eine Verbindung von Bleioxyd mit Bleisuperoxyd aufzufassen. Ziegelrothes Pulver von inkonstanter Zusammensetzung, spec. Gew. 9,0, beim Erhitzen bildet sich unter Sauerstoffabgabe Bleioxyd. Löslich in Salzsäure, Essigsäure und Phosphorsäure. Die Mennige dient in der Mikrotechnik zur Herstellung von Injektionsmassen und Kitten.

Menthol, $C_{10} H_{20} O$, ist der Hauptbestandtheil des Pfefferminzöles (aus Mentha piperita), aus dem es sich bei starkem Abkühlen krystallinisch abscheidet. Es bildet spitze, farblose Krystalle von charakteristischem Geruch und Geschmack, die bei 42° schmelzen. Sie sind in Wasser wenig löslich, gut löslich in Aether, Alkohol, Chloroform.

Menthol ist von Sorby zum Betäuben von Synapta und von Aktinien verwendet worden.

Litteratur: Sorby (Journ. R. Micr. Soc., 1899). *Mosse,* Berlin.

Menthol-Vasogen (aus der Fabrik von Pearson-Hamburg) ist von Herxheimer zur Entfärbung von Methylviolettpräparaten in 2%iger Lösung benutzt worden.

Litteratur: Herxheimer (Arch. Derm. Syph., Bd. 29, 1894).

Mesenterium. Ueber die Imprägnation mit Silber siehe Silber, über die Lebendbeobachtung vergl. Lebendes Objekt, Beobachtung desselben.

Um Mesenterium oder dünne Häute überhaupt ausgespannt unter das Deckglas zu bringen, kann man nach Ranvier das Verfahren der halben Eintrocknung anwenden, das darin besteht, dass man das Stückchen auf dem trockenen Objektträger gut ausbreitet und wartet bis die Ränder etwas eingetrocknet sind, sie haften dann einigermassen an dem Glas und vertragen den Zusatz von Flüssigkeit. Ein noch festeres Haften erreicht man dadurch, dass man die Ecken des Präparates mit einem Tropfen leicht schmelzbaren Paraffins fixirt. Man kann dann das Präparat färben, entwässern, aufhellen und einschliessen, ohne dass die Membran sich zusammenzieht.

Zur Färbung des frischen Präparates empfiehlt Ranvier sein Pikrokarmin oder ammoniakalisches Karmin. Man kann nach der Färbung mittels des Pinsels die Endothelzellen entfernen, mit absolutem Alkohol entwässern, dann Nelkenöl, Balsam.

Auch zur Untersuchung der Blutbildung eignet sich das Mesenterium junger oder neugeborener Thiere (Mäuse, Kaninchen) vorzüglich. Spuler

fixirt das aufgespannte Mesenterium zu diesem Zweck mit konc. wässeriger Pikrinsäure, der er 0,6% Essigsäure und 0,05% Osminmsäure zusetzt.

Litteratur: Ranvier (Technisches Lehrbuch), Spuler (Arch. mikr. Anat., Bd. 40, 1892).

Metachromasie. Unter »Metachromasie« versteht man nach Ehrlich[1]) die Erscheinung, dass ein chemisch einheitlicher Farbstoff verschiedene Gewebselemente mit einer verschiedenen Nuance anfärbt. Es ist nur eine beschränkte Zahl von Farbstoffen mit dieser Eigenschaft behaftet, und eine beschränkte Zahl von Gewebselementen, an der sich die Abweichung der Nuance von der als normal zu bezeichnenden geltend macht. Diese Farbstoffe wollen wir mit Ehrlich als metachromatische, die Gewebselemente als chromotrope bezeichnen. Der älteste Repräsentant der metachromatischen Farbstoffe ist das Jod, dessen normale Farbe, wie sie sich an der Färbung der Zellkerne und des Protoplasma äussert, gelb ist. Chromotrope Gewebselemente gegenüber dem Jod sind die amyloide Substanz und die Glykogenkörnchen, welche sich braun färben; Stärkekörnchen, die sich blau färben.

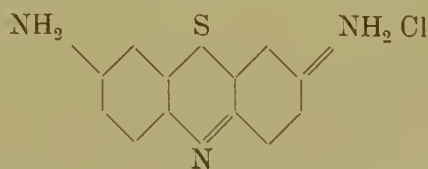
Es ist zum Begriff der Metachromasie durchaus nothwendig, dass der Farbstoff ein chemisches Individuum ist. So kann z. B. die Erscheinung, dass sich Amyloid mit Jodgrün roth färbt, deshalb nicht als eine echte Metachromasie gelten, weil sie auf einer Beimengung von Methylviolett beruht.

Nach dem Jod wurde zuerst das Methylviolett und einige ihm sehr nahestehende Farbstoffe (Dahlia, etc.) als metachromatische Farbstoffe erkannt, indem sie Amyloid und Mastzellengranula roth färben. Nachdem man durch Ehrlich gelernt hat, die Errungenschaften der Farbstoffchemie auf die histologische Methodik zu übertragen, können wir folgende Farbstoffklassen anführen, die metachromatische Farbstoffe enthalten:

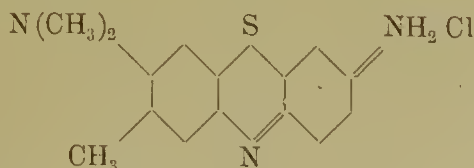
1. Die Triphenylmethanfarbstoffe. Und zwar sind es hier diejenigen basischen Farbstoffe, welche eine oder mehrere methylirte Amidogruppen enthalten. Ihre Namen sind je nach der Fabrik sehr wechselnd. Dahlia dürfte im wesentlichen ein Tetramethylrosanilin sein, Gentianaviolett ein unberechenbares Gemisch von Tetra-, Penta- und Hexamethylpararosanilin, wirklich gutes Methylviolett ist Hexamethylpararosanilin.

Dagegen ist das nicht methylirte Rosanilin und Pararosanilin, dessen Salze das Fuchsin darstellen, nicht metachromatisch.

2. Die Thiazine, und zwar, umgekehrt wie bei der vorigen Gruppe, diejenigen basischen Farbstoffe, deren Amidogruppen nicht vollständig oder gar nicht methylirt sind. Die wichtigsten sind das Thionin (nach Hoyer[2]),

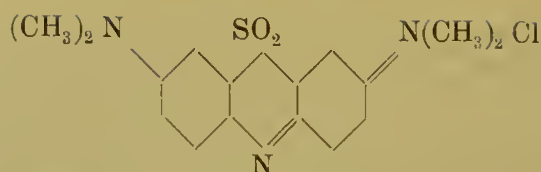


das Toluidinblau.



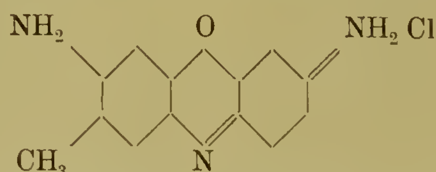
Dagegen ist das völlig methylirte Methylenblau nicht metachromatisch.

Zu den Thiazinen kann man auch einen eigenartigen, sehr wichtigen Farbstoff rechnen, der sich beim Stehenlassen von (besonders alkalischen) Methylenblaulösungen aus dem Methylenblau bildet, das Methylenazur, dessen Konstitution nach Bernthsen ist:

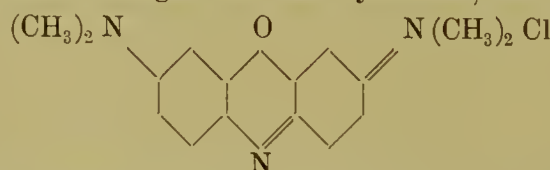


Wie man sieht, ist dieser Farbstoff, vorausgesetzt, dass die ihm zugeschriebene Konstitution richtig ist, völlig methylirt und schliesst sich daher den für die eigentlichen Thiazine giltigen Gesetzen nicht an.

3. Die Oxazine. Bei diesen gilt dieselbe Regel wie bei den Thiazinen. So ist das Oxonin



stark metachromatisch, ebenso die verschiedenen Kresylviolett (R extra, RR); dagegen nicht das Analogon des Methylenblau, das Capriblau.



Die chromotropen Gewebselemente sind vor allem die amyloide Substanz, die Mastzellengranula, der Schleim, die Knorpelgrundsubstanz.

Die folgende Tabelle zeigt die Nuancen der chromotropen Substanzen bei Anwendung einiger Typen von Farbstoffen an:

Normalfarbe	Amyloid	Mastzellen	Schleim	Knorpel
Methylviolett, blau (violett) .	roth	roth	roth	roth
Thionin, blau (violett) . . .	rein blau	roth	roth	roth
Methylenazur, blau	violett	roth	roth	roth
Kresylviolett RR violett . .	rein blau	roth	roth	roth

Alle diese Metachromasien kommen zustande, wenn man die Gewebe in einer wässerigen Lösung des Farbstoffes färbt; nur die Metachromasie der Mastzellen zeigt sich auch bei Färbung aus halb- oder ganzalkoholischer Lösung. In Wasser eingebettet, bleibt jede Metachromasie mit einiger Dauer bestehen. Viel besser aber eignet sich zum Aufbewahren metachromatisch gefärbter Präparate der Lävulosesyrup, dessen Anwendung folgendermassen geschieht: Lävulose (Fruchtzucker) wird mit weniger als dem gleichen Volumen Wasser angerührt, 24 Stunden in den Brutschrank gestellt; dann ist die Flüssigkeit gebrauchsfertig. Sie muss ganz dick, kaum noch tropfbar sein. Die Methode wird von Ehrlich schon seit langem angewandt.

Die Präparate werden direkt aus dem Wasser in den Syrup eingelegt. Umrandung des Deckglases ist nicht nothwendig, da der Syrup allmählich zu einer festen, klebrigen Masse eindickt, ohne dass jemals Krystalle in ihm auftreten. Er dringt viel rascher als Glycerin ein, hellt noch stärker als dieses auf und verändert an der Färbung nichts. Es sind komplicirte Methoden zum Aufbewahren von Amyloidfärbungen angegeben worden: Lävulosepräparate sind unbegrenzt haltbar.*

* Meine ältesten Amyloid-Methylviolettpräparate in Lävulose sind 3 Jahre alt und völlig unverändert.

Viel ungeeigneter ist Glycerin. Es extrahirt die Farbe sehr bald, vernichtet manche Metachromasie und dringt langsam ein.

Manche metachromatische Färbung lässt sich aber auch ungestört durch Alkohol oder andere wasserentziehende Mittel und daher schliesslich auch in Kanadabalsam bringen. Vor allem ist das die metachromatische Färbung der Mastzellen, welche so alkoholresistent ist. Sehr rasch wird die Metachromasie des Amyloids durch Alkohol vernichtet. In der Mitte steht Schleim und Knorpel. Bei diesen gelingt es manchmal, bei rascher Entwässerung die Metachromasie ganz oder theilweise zu conserviren. Das hängt etwas vom Material ab. Die verschiedenen Schleimsubstanzen verhalten sich darin ganz verschieden. R. Krause [3]) hat durch Behandeln des metachromatisch gefärbten Schleims mit Ferrocyankalium erreicht, dass die Metachromasie des Thionins im Alkohol erhalten blieb.

Der Alkohol stört die Metachromasie nur nach stattgehabter Färbung. Vorher können die Organe sehr wohl in Alkohol gelegen haben. Man lasse sie aber nicht zu lange im Alkohol; schon die 8tägige Einwirkung des Alkohol kann die Chromotropie, besonders des Amyloids, stark beeinträchtigen. Formol scheint die Chromotropie besser zu erhalten.

Ganz vorzüglich bleibt die Chromotropie nach Sublimatfixation gewahrt. In Paraffin eingebettete Stücke verändern ihr Verhalten gegenüber den Farbstoffen nicht mehr.

Um sich Vorrath an z. B. Amyloidmaterial zu halten, ist es daher am besten, die Stücke in Paraffin einzubetten; auch in Formol halten sie sich ganz gut. Nur Mastzellenmaterial verträgt längeres Aufbewahren in Alkohol.

Beim Färben der Mastzellengranula hat man noch zu berücksichtigen, dass es Mastzellengranula giebt, welche durch reines Wasser leicht gelöst werden (z. B. die des leukämischen Blutes). Dieselben Granula erleiden bei Einbettung in Paraffin oder Celloidin eigenartige Verklumpungen und gehen dabei ihrer Chromotropie in verschiedenem Grade verlustig. Man kann daher wasserlösliche Granula nur dann vollständig färben, wenn man sie von reinem Wasser und reinwässerigen Farbstofflösungen vollständig fernhält und, falls es sich nicht um Trockenpräparate, sondern um Schnitte handelt, wenn man die nur in Alkohol fixirten Stücke mit dem Rasirmesser schneidet. Als Farbflüssigkeit sind dann halbalkoholische Lösungen zu verwenden, welche, wie gesagt, gerade gegen Mastzellengranula noch metachromatisch sind. Gegen Schleim oder Knorpel verhalten sich solche halbalkoholischen Lösungen ganz anders. Sie färben alles zunächst mit der normalen Nuance an, und erst beim nachträglichen Einlegen der Schnitte in Wasser tritt die Metachromasie allmählich hervor.

Die erwähnten Fälle von Metachromasie sind nicht die einzigen. So färbt sich z. B. das fibrilläre Bindegewebe in einer wässerigen Thioninlösung violettstichiger als die Kerne; so färben sich manchmal die Markscheiden der Nervenfasern in wässeriger Thioninlösung etwas roth. Nach Harris [4]) färben sich vital die Axencylinder mit Toluidin blauviolett. Aber diese Metachromasien sind so labil, dass man sich auf sie nicht verlassen kann, und sie sind auf keine Weise zu fixiren. Die Markscheidenfärbung verliert z. B. die Metachromasie schon durch Zusatz irgend eines Salzes zum Waschwasser in geringster Menge; erst recht in Alkohol, Glycerin, Lävulose. Am ausgeprägtesten erhielt ich die Markscheidenmetachromasie mit einem Farbstoff, der aus dem Thionin in ähnlicher Weise hergestellt war, wie der Weigert-sche Elastinfarbstoff aus dem Fuchsin. Diese Färbung ist aber wegen ihrer Unbeständigkeit ebenfalls praktisch unbrauchbar.

Auch die Markscheidenfärbung mit Safranin nach Adamkiewicz beruht auf einer Metachromasie. Doch scheint es sehr auf die Farbstoffmarke anzukommen, da die Methode nicht immer gelingt. Es verlohnte sich, dieser

Markscheidenmetachromasie noch näher auf den Grund zu gehen, als das bis jetzt geschehen ist. In der That ist nämlich auch das Safranin, und in noch höherem Grade das Neutralroth ein metachromatischer Farbstoff. Ihre Normalfarbe ist roth, ihre metachromatische Nuance orange. Sie zeigt sich bei Mastzellen wie bei Schleim.

Auch die von ROSIN beschriebene differente Färbung der verschiedenen Substanzen des Centralnervensystems mit Neutralroth dürfte auf einer echten Metachromasie beruhen.

Die wichtigsten metachromatischen Farbstoffe sind demnach blaue bis violette basische Farbstoffe, ihre metachromatische Nuance nähert sich dem Roth. Die beiden zuletzt genannten Farbstoffe sind roth, ihre metachromatische Nuance orange. Es stellt sich dabei die auffällige Thatsache heraus, dass die metachromatische Nuance immer die Färbung der freien Farbbase ist: alle Farbbasen der metachromatischen Thiazine und Oxazine sind roth; das Methylenblau dagegen, dessen Farbbase ebenfalls blau ist, färbt auch nicht metachromatisch. Die Base des Neutralroth ist gelb; wenn man eine alkalische Safraninlösung mit Chloroform ausschüttelt, so färbt sich dieses gelb. Die Base des Methylenazur ist roth. Versetzt man eine Methylviolettlösung mit Natronlauge, so entsteht zunächst die rothe Farbbase, welche sich allerdings durch Addition von H_2O rasch in die farblose entsprechende Karbinolbase umlagert. Man könnte daher versucht sein, z. B. die Metachromasie der Mastzellen derartig zu deuten, dass man ihren Körnchen eine stark alkalische Reaktion zuschriebe, welche aus den Farbsalzen die Farbbase in Freiheit setze. Das ist aber nicht richtig. Denn wenn man z. B. roth gefärbte Mastzellengranula mit HCl behandelt, so bleiben sie roth, während doch die freie rothe Base der Farbstoffe mit Säuren sofort blaue Salze bildet.

In praxi wird man folgende metachromatische Färbungen empfehlen können:

1. Amyloid. Fixation in Alkohol oder Formol. Färbung in Methylviolett. Kerne blau, Amyloid roth. Einlegen in Lävulosesyrup. Differentialdiagnose gegen Schleim: ein zweiter Schnitt wird in einer wässerigen Lösung von Thionin* gefärbt: Schleim roth, Amyloid himmelblau.

2. Schleim und Knorpel. Fixation in Sublimat, allenfalls auch Alkohol oder Formol.

Färbung mit wässeriger Lösung von Thionin oder Toluidinblau. Einlegen in Lävulose, oder auch rasches Entwässern mit Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

[Eventuell auch vor dem Entwässern Fixiren der Farbe in 10%iger Lösung von Ferrocyankalium.]

3. Mastzellengranula. Die Universalmethode, welche sich bei wasserlöslichen wie wasserunlöslichen Mastzellen in gleicher Weise bewährt, sobald man Trockenpräparate oder Rasirmesserschnitte nach Alkoholfixation färbt, ist folgende:

Färbung 10 Minuten oder länger in gesättigter Lösung von Thionin in 50%igem Alkohol. Abspülen in 50%igem Alkohol. Dann (bei Trockenpräparaten) trocknen, Kanadabalsam, oder (bei Schnitten) mit Alkohol absol. entwässern, Xylol, Kanadabalsam.

Für eingebettete Präparate, bei denen man nicht, besonders bei leukämischen Geweben, vergessen darf, dass die Mastzellen stark verunstaltet sein können, leistet auch folgende Methode nach UNNA gute Dienste:

Ueberfärben einige Minuten in UNNA's polychromem Methylenblau, d. i. eine Lösung im wesentlichen von Methylenazur, welche dadurch hergestellt wird, dass man Methylenblaulösungen mit Alkalien behandelt. Dif-

* Man verlange Thionin (EHRLICH-HOYER) bei Grübler. Es giebt viele fälschlich mit diesem Namen belegte Farbstoffe im Handel.

ferenziren in UNNA's Glycerinäthergemisch, eventuell mit Wasser verdünnt, Alkohol, Xylol, Balsam.

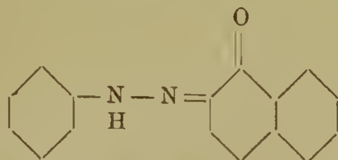
Wir wenden uns jetzt zu der Frage vom Wesen der Metachromasie. Zunächst müssen wir eine Anschauung aufs bestimmteste zurückweisen, es beruhe die Metachromasie auf der Vermengung des Farbstoffes mit einem zweiten und es stelle deswegen die Metachromasie nichts weiter als eine Elektionsfärbung dar. Man muss zwar zugeben, dass es solche Fälle giebt; so mussten wir die Metachromasie des Jodgrüns gegen Amyloid auf eine Verunreinigung mit Methylviolett zurückführen. Deshalb hatten wir auch diese Färbung von den echten, reinen metachromatischen abgetrennt.

Bei der echten Metachromasie handelt es sich stets um einheitliche Farbstoffe, um chemische Individuen und wir können demnach zunächst als Faktum konstatiren, dass ein und derselbe Farbstoff, je nach dem Medium, in dem er sich befindet, eine wechselnde Nuance zeigt. Der Anschaulichkeit halber suchen wir zunächst nach Analogien. Diese sind recht zahlreich. Jod ist, in Alkohol gelöst, braun, in Paraffin oder Chloroform gelöst violett. Viele organische Farbstoffe zeigen in verschiedenen Lösungsmitteln verschiedene Nuancen. Diese Thatsache ist so gut bekannt, dass man sogar versucht hat, den Wechsel der Nuance mit allgemeinen physikalischen Eigenschaften in Verbindung zu bringen. So besagt die KUNDT'sche Regel, dass das spektroskopische Absorptionsband eines Farbstoffs in dem Lösungsmittel von stärkerem Dispersionsvermögen nach dem rothen Ende des Spektrums zu verschoben werde. Die allgemeine Giltigkeit dieses Gesetzes ist neuerdings in Zweifel gezogen worden, und TRAUBE [2]) hat nachgewiesen, dass noch ein anderer Faktor einen Einfluss auf die Lage der Absorptionsbänder hat, nämlich die Temperatur des Lösungsmittels, indem mit einigen Ausnahmen mit zunehmender Temperatur die Bänder der rothen Farbstoffe nach dem rothen, die der blauen nach dem blauen Ende des Spektrums verschoben werden.

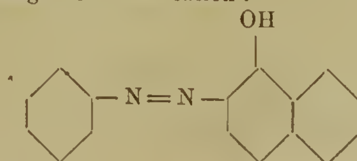
Diese Thatsachen sollen zunächst nur beweisen, dass chemisch einheitliche Farbstoffe je nach den physikalischen Bedingungen in verschiedenen Nuancen erscheinen können, und wir werden uns mit Berechtigung an die Aufstellung einer Theorie von dem Wesen der hier beschriebenen Metachromasien heranwagen können.

Betrachten wir der Anschaulichkeit halber ein konkretes Beispiel, die Rothfärbung des Schleims durch Thionin, so können wir sagen, dass das blaue Thionin der wässerigen Lösung und das rothe Thionin des Schleims einander tautomer sind, das heisst, dass beide Körper chemisch dieselbe summarische Formel haben werden, dass dagegen ihre Konstitutionsformeln irgend einen kleinen Unterschied aufweisen werden, so jedoch, dass beide Formeln leicht in einander übergehen, und dass es nicht möglich ist, die Moleküle der einen Konstitution von denen der anderen zu isoliren.

Solche Tautomerien giebt es zahllose, und ich will nur ein Analogon, wiederum aus der Farbstoffchemie, anführen. Der Körper Benzolazo β naphtol hat in alkalisch-wässriger Umgebung die Konstitution:



in alkalisch-alkoholischer Lösnng die Konstitution:

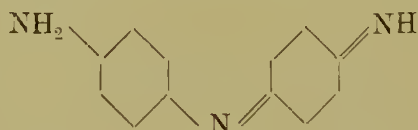


Die beiden Formeln entstehen aus einander durch Umlagerung eines H-Atoms und sind nicht willkürlich von einander zu trennen, vielmehr hat der Körper in einem wässrigen Medium immer die erste Konstitution, aber wenn man ihn in alkoholischer Natronlauge löst, immer die zweite Konstitution. Bei anderen tautomeren Körpern kommt es vor, dass die beiden tautomeren Formeln gleichzeitig neben einander vorkommen, derartig, dass die relativen Mengenverhältnisse in ein und demselben Medium immer konstant sind. Entzieht man der Lösung eines solchen Körpers die eine der beiden tautomeren Molekülgattungen, so strebt der Rest durch Umlagerung sofort wieder einem Gleichgewichtszustand zu, welcher erreicht ist, wenn das anfängliche relative Mengenverhältniss wieder vorhanden ist.

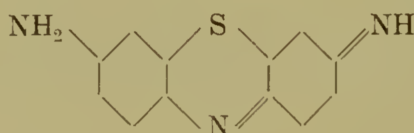
Es giebt zwei tautomere Modifikationen des Thionins, eine blaue und eine rothe. In wässriger Lösung ist allein oder fast allein die blaue vorhanden, in einem Schleimmedium überwiegt die rothe. In alkoholischer Lösung ist das Thionin noch reiner blau als in wässriger, vermuthlich weil hier die rothe Modifikation überhaupt nicht existenzfähig ist. Je nach den Umständen, je nach der Sorte des Schleims, schwankt seine Färbung zwischen roth und violett. Bei der violetten Färbung ist ein Theil des Thionins in der rothen, ein anderer in der blauen Modifikation vorhanden.

Worin besteht nun aber die vermuthete Tautomerie des Thionins, und welches sind die beiden tautomeren Formeln desselben?

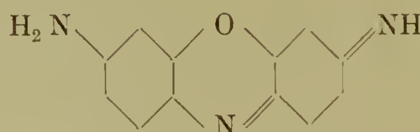
Das Thionin gehört in die grosse Gruppe der »Chinonimidfarbstoffe«, welche im allgemeinen nach folgendem Schema gebaut sind:



Ein Stickstoffatom bindet in unsymmetrischer Weise, nach der einen Seite mit einer Valenz, nach der anderen mit zwei Valenzen, zwei Benzolringe. Als unwesentlich kommt bei den Thiazinen die nochmalige Bindung der Benzolringe durch ein S-Atom, bei den Oxazinen durch ein O-Atom hinzu:



ein Thiazin (Thionin),

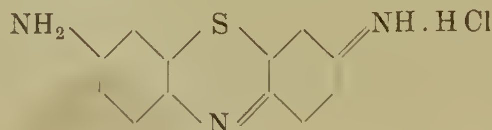


ein Oxazin.

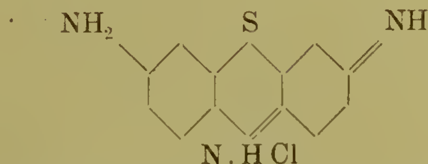
Auf jeden Fall können wir drei N-Atome unterscheiden, welche alle die Eigenschaft haben, mit Säuren Salze zu bilden.

Wir unterscheiden das Binde-N und die beiden Seiten-N.

Die Erfahrung hat nun gelehrt (Nietzki), dass bei solchen indaminartigen Körpern die blaue Farbe hervortritt, wenn die Salzbildung an einem Seiten-N stattfindet, die rothe, wenn sie an einem Binde-N stattfindet. Letzteres ist beim Neutralroth und Safranin der Fall. Das blaue Thionin ist ein Salz der Thioninbase, bei der die Salzbildung an einem Seiten-N stattfindet,



das rothe Thionin ein Salz, bei dem die Säure an das Binde-N gebunden ist:



Es hat sich ferner durch Analogien herausgestellt, dass die rothe Farbe weniger an der stattgehabten Salzbildung am Binde-N liegt, als vielmehr an der Freiheit des Seiten-N. Die Freiheit des Seiten-N theilen aber die rothen Salze des Thionins mit der Thioninbase, und daraus erklärt sich der konstante, sonderbare Befund, dass die metachromatische Nuance immer die Nuance der freien Base ist.

Der beschränkte Raum gestattet nicht, die zahlreichen Beispiele anzuführen, welche durch diese Theorie erklärt werden. Ich will an dieser Stelle nur zweier Thatsachen gedenken, welche nicht mit ihr übereinzustimmen scheinen.

Erstens ist durch diese Theorie nicht die Metachromasie des Methylviolett erklärt. Demgegenüber möchte ich aber bemerken, dass die jetzt gebräuchliche Formel des Methylviolett auch sonst nicht alle chemischen Eigenschaften dieses Farbstoffes erklärt. Nach der jetzigen Schreibweise ist das Methylviolett eine Ammoniumbase; nun lässt sich aber durch Na OH die Base des Methylvioletts aus seinen Salzen so leicht in Freiheit setzen, dass man nicht recht glauben kann, dass es wirklich eine Ammoniumbase ist. So paradox es klingen mag, muss ich doch behaupten, dass die Konstitutionsformel des Methylvioletts noch nicht genügend geklärt ist. Wenn daher die jetzt gebräuchliche Formel des Methylvioletts meiner Theorie der Metachromasie zu widersprechen scheint, so kann das nicht schwer wiegen.

Zweitens lässt sich diese Theorie nicht auf das Methylenazur anwenden, wenn es wirklich die Formel hat, die BERNTHSEN ihm zuschreibt. Aber die BERNTHSEN'sche Formel erklärt auch manches andere am Methylenazur nicht. Es soll, nach dieser Formel, eine Ammoniumbase sein, wie das Methylenblau, und man sollte daher annehmen, dass es sich gegen Alkalien ebenso wie dieses verhält. Das ist aber gar nicht der Fall. Seine Base wird von Na OH mit Leichtigkeit quantitativ in Freiheit gesetzt, was bei einer Ammoniumbase unerhört wäre.

Dagegen lassen sich alle Thiazine und Oxazine, deren Konstitution sicher bekannt ist, zwanglos dieser Theorie unterordnen. Mit Hilfe der Theorie ist es sogar möglich, aus der blossen Formel des Farbstoffs vorherzusagen, ob er metachromatisch sein wird oder nicht.

Es müssen nämlich alle diejenigen indaminartigen Farbstoffe metachromatisch sein, welche mindestens eine freie, nicht substituirte Amidogruppe besitzen, während diejenigen, welche lauter substituirte Amidogruppen haben (Methylenblau, Kapriblau, Bindschedler's Grün), nicht metachromatisch sein können, weil ihnen das wanderungsfähige H-Atom (der HCl) fehlt.

Litteratur: 1) EHRLICH P. (Arch. mikr. Anat. 1877), 2) HOYER H. (Arch. mikr. Anat. 1890), 3) KRAUSE R. (Arch. mikr. Anat., Bd. 49, 1897), 4) HARRIS (Philadelph. med. Journ. 1898, 5) TRAUBE A. (Inaug.-Diss. Berlin 1901). *L. Michaelis*, Berlin.

Metagelatine. Wenn man eine Leimlösung mit verdünnter Salpetersäure oder Leimgallerte mit konc. Essig- oder Oxalsäure erwärmt und erkalten lässt, so gelatinirt die Lösung nicht mehr, auch nicht nach Neutralisation mit kohlensaurem Kalk. Die Flüssigkeit hat ihre Klebkraft

nicht verloren und ist wenig der Fäulniss unterworfen. In der chemischen Technologie wird der durch Oxalsäure umgewandelte und durch kohlensauren Kalk neutralisirte Leim als Metagelatine (nach CAREY LEA) bezeichnet.

Dagegen spricht FOL von Metagelatine als von einer auch in der Kälte flüssigen Leimlösung, die erhalten wird, wenn man Leim mehrere Stunden mit geringer Ammoniakzugabe im Wasserbade in der Siedehitze hält. In diese kaltflüssige Lösung kann man Berlinerblau oder Chromgelb eintragen; durch Zusatz von verdünntem Alkohol ist sie zu verdünnen. So kann die Masse bis in die feinsten Kapillarnetze gespritzt werden. Die injicirten Objekte kommen dann in starken Alkohol oder in Chromsäure, wo die Metagelatine bald starr wird.

Litteratur: FOL (Lehrbuch). *Mosse,* Berlin.

Metanilgelb. Syn. Orange MN, Tropaeolin G (Berlin, Elberfeld, Ludwigshafen), Monazofarbstoff, das Natriumsalz des m-Amidobenzolsulfosäureazodiphenylamins $(SO_3 Na) C_6 H_4 . N : N . C_6 H_4 (NH . C_6 H_5)$. Braungelbes Pulver, das in Wasser und Alkohol mit orangegelber, in koncentrirter Schwefelsäure mit violetter Farbe löslich ist. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure roth. Wenig säure-, aber sehr lichtecht.

Von GRIESBACH ist es als Plasmafarbstoff in Kombination mit Methylviolett und Säurefuchsin gerühmt worden. 24 Stunden in Metanilgelb, wässern, 2 Minuten Methylviolet, wässern, 4 Minuten Säurefuchsin und differenziren in absolutem Alkohol.

KUCZYNSKI kombinirt es mit Azoblau: gleiche Theile konc. wässeriger Lösung beider Farbstoffe. Färben 10 Minuten lang.

Litteratur: GRIESBACH (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), KUCZYNSKI (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 7, 1890).

Metaphenylendiamin siehe Bismarckbraun.

Methämoglobin siehe Blutkrystalle.

Methylal, Formal, Methylendimethyläther, $CH_2—(O—CH_3)_2$, bildet eine bei 42° siedende, farblose Flüssigkeit vom spec. Gew. 0,855, die in 3 Theilen Wasser, leichter in Alkohol und Aether löslich ist, ebenso sich mit Fetten und ätherischen Oelen mischt. Methylal findet in der praktischen Medicin als Schlafmittel Verwendung, in der mikroskopischen Technik von PARKER bei der Nachbehandlung nach der Methylenblauinjektion. Die Objekte werden in Sublimat 10 Minuten fixirt, kommen dann zur Entwässerung in ein Gemisch von 5 Ccm. Methylal und 1 Grm. Sublimat, dann allmählich in reines Xylol.

EHRLICH und LAZARUS erwähnen für die Blutfärbung in der Hitze fixirter Präparate ein Gemisch von 10 Ccm. 1%iger wässeriger Eosinlösung, 8 Ccm. Methylal und 10 Ccm. einer gesättigten wässerigen Lösung von Methylenblau medicinale. Färbungsdauer 1, höchstens 2 Minuten.

Litteratur: EHRLICH-LAZARUS (Anämie, 1898), PARKER (Zool. Anz., 15. Jahrg., 1892 und Sitz. Ges. Nat. Freunde, Berlin 1892). *Mosse,* Berlin.

Methylalkohol oder Holzgeist $CH_3 . OH$ verdankt seinen Namen dem Vorkommen unter den Destillationsprodukten des Holzes. Er bildet ein farbloses, leicht bewegliches Liquidum vom Siedepunkt 66° und dem specifischen Gewicht 0,798 bei 15°. Brechungsindex 1,330.

Seine Eigenschaften sind denen des Aethylalkohols sehr ähnlich, er ist wie dieser ein gutes Solvens für organische Stoffe. Technisch dient er zur Bereitung von Firnissen und Farben (Anilinviolett). Reiner Methylalkohol riecht weingeistig, brennt mit blauer Flamme und löst, wenn absolut, geglühtes Kupfersulfat mit blaugrüner Farbe.

Die Handelsware ist häufig mit Aceton verunreinigt. Einen Gehalt an letzterem erkennt man, indem man 1 Ccm. des Methylalkohols mit 10 Ccm. Doppel-Normal-Natronlauge, 5 Ccm. Doppel-Normal-Jodlösung und 10 Ccm. reinem Aether schüttelt. Hinterbleibt beim Verdampfen der abgehobenen Aetherschicht Jodoform, so ist die Gegenwart von Aceton erwiesen.

Erkannt werden kann Methylalkohol durch Ueberführung in Formaldehyd (CH_2O), die leicht durch eine glühende Kupfer- oder Platinspirale bei Gegenwart von Luftsauerstoff erfolgt. *Neuberg*, Berlin.

Der Methylalkohol findet in der Mikrotechnik nur eine sehr geringe Verwendung. Meistens vertritt er den Aethylalkohol, wenn es sich darum handelt, Präparate zu entwässern, welche mit Farbstoffen gefärbt sind, die sich in dem letzteren lösen, im ersteren aber unlöslich oder schwer löslich sind, wie z. B. Safranin. Ein im übrigen seltenes Vorkommniss, da der Methylalkohol zumeist ein besseres Solvens für organische und unorganische Körper ist, als der Methylalkohol.

Wegen seines sehr geringen Brechungsindex kann er manchmal mit Vortheil als Beobachtungsmedium benutzt werden.

Methylblau, Syn. Baumwollblau, Bayrischblau, Helvetiablau, Diphenylaminblau (Casella) entsteht durch Sulfurirung des Triphenylpararosanilins. Dunkelblaues Pulver, in Wasser und Alkohol mit blauer Farbe, in koncentrirter Schwefelsäure mit brauner Farbe leicht löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge rothbraun, mit Salzsäure entsteht ein blauer Niederschlag.

Von Mann in Verbindung mit Eosin zur Färbung von Nervenzellen benutzt. (Näheres siehe Eosin.)

Methylenazur siehe Methylenblau, Metachromasie und Neutrale Farbgemische.

Methylenblau. I. Eigenschaften. Das Methylenblau ist ein Salz der Base Tetramethylthionin. Es kommt in zweierlei Salzform in den Handel, als salzsaures Salz oder Chlorhydrat:



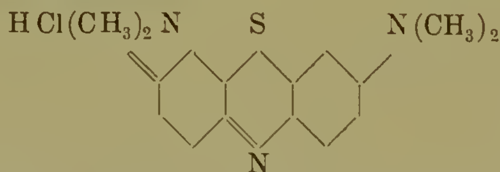
$$C_{16}\ H_{18}\ N_3\ S\,Cl,$$

und als Zinkchlorid-Doppelsalz:



$$2\,(C_{16}\ H_{18}\ N_3\ S\,Cl) + Zn\,Cl_2 + H_2\,O.$$

Formel für das Chlorhydrat:



Das Methylenblau-Chlorhydrat ist ein dunkelblaues oder rothbraunes, bronceglänzendes Pulver; das Zinkchloriddoppelsalz ein krystallinisches, grünglänzendes, grobkörneriges Pulver. Beide sind in Wasser äusserst leicht mit blauer Farbe, in Alkohol etwas weniger leicht löslich.

Verschiedene Bezeichnungen der hauptsächlich bekannten Methylenblaupräparate sind:
1. Methylenblau B, B G (der badischen Anilinfabrik in Ludwigshafen),
2. Methylenblau B B, in Pulver, I^a D, extra D (der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation sowie der Höchster Farbwerke),
3. Methylenblau in Pulver extra (der Höchster Farbwerke, der Berliner Aktiengesellschaft und der Friedrichsfelder Farbwerke),
4. Methylenblau B B krystallinisch der Höchster Farbwerke,
5. Methylenblau D, B B extra der Höchster Farbwerke.

Das Methylenblau gehört zu der kleinen Gruppe derjenigen meist blauen oder violetten Anilinfarbstoffe, welche Schwefel im Molekül enthalten

(LAUTH'scher Farbstoff). Es besitzt die Eigenschaft der Küpenbildung, d. h. beim Erhitzen mit reducirenden Agentien in alkalischer Lösung (z. B. Zinkstaub oder Traubenzucker oder Harn, Blut, namentlich zuckerhaltigem) bildet sich eine farblose Leukobase, die sehr leicht, schon durch den Sauerstoff der Luft, sowie durch oxydirende Substanzen, ausserdem auch durch Ansäuern zum Methylenblau zurückverwandelt wird.

Das Methylenblau (beide Salze desselben) hat ferner die Eigenschaft, bei längerem Stehen geringe Mengen von farbigen Zersetzungsprodukten zu bilden, welche bei vorsichtigem Erhitzen mit Alkalien, mit Soda oder dünner Natronlauge sich sofort in grösserer Menge bilden. Nach den Untersuchungen von BERNTHSEN kommen hierbei zwei Farbstoffe in Betracht: das Methylenviolett und das Methylenazur (nicht aber das Methylenroth, welches auf ganz anderem Wege entsteht).

Von besonderem Interesse (UNNA, ROSIN, L. MICHAËLIS) ist das Methylenazur — das Methylenviolett ist noch zu wenig untersucht —, welches mittels Aether dem Methylenblau durch Schütteln entzogen werden kann, während in Chloroformextrakt auch Methylenviolett gelöst bleibt.

Unter rothstichigem oder polychromatischem (UNNA) Methylenblau versteht man solches, welches reichlich Methylenviolett und Methylenazur enthält.

Dieses unreine Methylenblau, welches, wie erwähnt, bei längerem Stehen auch von selbst sich bildet, überdies auch verschiedentlich als Pulver käuflich ist, ist von besonderer Bedeutung bei verschiedenen Färbungsmethoden (s. unten, cf. auch neutrale Farbgemische).

Es verdient daher neben dem Methylenblau selbst auch das Methylenviolett und das Methylenazur berücksichtigt zu werden. Letzteres konnte Verfasser in reinem Zustande folgendermassen darstellen:

Reines Methylenblau wird in 1%iger Sodalösung bis zur Sättigung aufgelöst, das Filtrat 1 Stunde über dem Wasserbade erhitzt und dann zum Trocknen eingedampft. Der Rückstand wird mit Aether im Rückflusskühler solange extrahirt, als sich dieser noch feurig roth färbt (Methylenblau und Methylenviolett sind in Aether unlöslich). Die vereinigten Aetherextrakte werden abdestillirt, solange, bis das Methylenazur, welches im Aether nicht sehr leicht löslich ist, auszufallen beginnt. Man koncentrirt die Mutterlauge vorsichtig weiter bis auf einen nicht zu kleinen Rest, welcher gelbe Verunreinigungen enthält. Das ausgefallene reine Methylenazur löst sich in Chloroform mit rothvioletter, in Wasser und Alkohol mit blauer Farbe, während es in alkalischem Wasser und alkalischem Alkohol rothviolett wird, nach Ansäuern wieder blau wird u. s. f. Aus der wässerigen blauen Lösung wird es durch Aether mit rother Farbe nahezu vollständig ausgezogen. Kohlensäure, in rothstichige Lösungen des Methylenazur eingeleitet, bläut die Farbe, falls das lösende Medium überhaupt imstande ist, Kohlensäure aufzunehmen, sie hat also keinen Einfluss auf rothe, ätherische Lösungen.

II. Allgemeine Verwendung in der mikroskopischen Färbetechnik. Das Methylenblau verdankt seine Einführung in die Mikroskopie im wesentlichen P. EHRLILH, der zuerst seine hervorragenden Eigenschaften, vor allem die intensive, dauerhafte Färbekraft, die Metachromasie, die Bildung der Leukobase, die Ungiftigkeit, erkannte. So hat EHRLICH den Farbstoff unter anderem auch zu der von ihm zuerst aufgefundenen »vitalen« Färbung verwendet und seine specielle Affinität zum Nervengewebe festgestellt; eine Anwendungsweise, für welche der Farbstoff auch heute noch einzig und allein in Gebrauch ist. Auch pharmakologisch ist er von EHRLICH gegen Neuralgie und Malaria empfohlen worden.

Das Methylenblau gehört zu den sogenannten Kernfarbstoffen, d. h. es besitzt im allgemeinen eine starke Affinität zu den Kernsubstanzen und umgekehrt keine zum gewöhnlichen Protoplasma der Zellen. Allein es ist kein reiner Kernfarbstoff (wie z. B. das Methylgrün). Es färbt vielmehr neben den Kernen auch alle sonstigen Substanzen im Protoplasma, welche basophil sind. Demgemäss kann man mit Methylenblaulösungen (wässerig oder alkoholisch) echt* färben:

* Ueber echte Färbung, chemisch oder physikalisch, siehe PAPPENHEIM, Grundriss der Farbchemie.

1. Alle Zellkerne und die Kernkörperchen vieler Kerne. Eine Ausnahme davon machen die (nicht basophilen) Kerne der Nervenzellen, soweit ihr spärliches Chromatin überhaupt färbbar ist. Andererseits färben sich wiederum damit die Kernkörperchen der Nervenzelle.

2. Die basophilen Granulationen des Blutes (Mastzellengranula).

3. Der basophile Leib der Lymphocyten und der Uebergangsformen.

4. Das Granoplasma der Plasmazellen.

5. Die NISSL'schen Granula der Nervenzellen.

6. Die basophilen Körnchen der Erythrocyten und die centrale basophile Substanz der Blutplättchen.

7. Mucin.

8. Künstlich durch Behandlung mit Säuren oder Beizen basophil gemachte, sonst oxyphile protoplasmatische Substanzen; Färbung nach Art der Beizen (vergl. hierzu die APÁTHY-BETHE'sche Methode s. d.).

Methylenblau, welches reich an Methylenazur ist, färbt manche basophile Substanzen in einer röthlichen Färbung, welche namentlich bei Lampenlicht sehr hervortritt. Man bezeichnet diese, sich nicht nur beim Methylenblau, sondern auch bei anderen Farbstoffen darbietende Eigenschaft als Metachromasie. Besonders stark metachromatisch färben sich die Mastzellengranula. Auch verstärkt die Gegenwart des Methylenazur die Intensität des Methylenblau häufig, wie z. B. bei der Färbung des Leibes der Plasmazellen, welche besonders durch die azurreiche UNNA'sche polychromatische Methylenblaulösung hervortreten.

Die mit Methylenblau-, respektive mit Methylenazur echt gefärbten Gewebe gehen mit dem Farbstoff eine Verbindung ein, die durch Wasser niemals mehr extrahirt werden kann, während Alkohol diese Verbindung ganz allmählich wieder zu trennen vermag. Uebrigens wird das (oxyphile) Protoplasma durch Methylenblaulösungen ganz blass mitgefärbt, besonders dann, wenn mit Alkohol nicht allzu stark extrahirt worden ist.

Endlich hat Methylenblau die Eigenschaft, niemals zu überfärben, so dass man beliebig starke Lösungen zur Färbung verwenden kann.

Wie die basischen Anilinfarbstoffe im Allgemeinen, so geht das Methylenblau mit den sauren Anilinfarben wohl charakterisirte krystallisirte Verbindungen ein, besonders mit dem Eosin, welche als neutrale Farbstoffe (s. d.) für die Färbetechnik von besonderer Bedeutung sind.

Das Methylenblau hat aber noch eine besondere Fähigkeit, welche, wie erwähnt, EHRLICH zuerst erkannt hat, nämlich diejenige der vitalen Färbekraft.

Lebendes Gewebe nimmt im allgemeinen Farbstoffe nicht als solche an. Auch das Methylenblau wird vom lebenden Gewebe niemals unverändert aufgenommen. Aber in Form seiner Leukobase (s. oben) findet es Zutritt in das lebende oder wenigstens erst im Absterben begriffene Nervengewebe. Namentlich die peripheren Nerven, bei niederen Thieren auch die centralen und deren Zellen, haben eine Affinität zum Leukomethylenblau, welches sie sich selbst durch ihre reducirende Kraft aus dem Methylenblau bereiten. Ein nervenhaltiges, mit Methylenblau vital gefärbtes Gewebe, nach dem Absterben dem Sauerstoff der Luft ausgesetzt, lässt also auf dem sonst nahezu farblosen Grunde die Nerven bis in ihre kleinsten Fibrillen und Endigungen gefärbt deutlich hervortreten. Auf dieser Thatsache beruht das Princip der vitalen Färbungsmethode mit Methylenblau (s. d.).

III. Specielle Anwendungen des Methylenblau. 1. Methylenblau für die Bakterienfärbung.

a) Die Mehrzahl aller Bakterien färbt sich leicht und intensiv mit wässerigen oder alkoholischen Methylenblaulösungen.

b) Wie NAKANISHI gezeigt hat, gelingt sogar eine Strukturfärbung der Bakterien, wenn man sie frisch aus der Kultur auf einen Objektträger bringt, auf dem Methylenblau in dünner Schicht angetrocknet ist (durch Bestreichen desselben mit einer dünnen wässerigen oder alkoholischen Methylenblaulösung). Man bringt auf das kaum sichtbar blau gefärbte Glas etwas von der lebenden Kultur, bedeckt mit einem Deckgläschen, und beobachtet mit Immersion: Man kann nach NAKANISHI dann sogar Kerne innerhalb der Bakterienleiber wahrnehmen.

c) Einige Bakterienarten färben sich aber nicht mit einfachen Methylenblaulösungen. Eine intensive Färbung gelingt dann hier noch, besonders auch in Schnitten mit dem sogenannten Löffler'schen Methylenblau, welches alkalisch ist und daher reichlich Methylenazur enthält (s. d.).

Zusammensetzung der Lösung:

Concentrirte alkoholische Methylenblaulösung 30,0, Kalilauge (0,01%) 100. Man färbt 5 Minuten und wäscht dann mit destillirtem Wasser die überschüssige Farbe ab. Hiermit gelingt es noch, Diphtherie-, Influenza-, Rotz-, Typhusbacillen zu färben. Ebenso färbt man auch Klatschpräparate aus der Kultur.

In Schnitten färbt man mit der Löffler'schen Lösung folgendermassen:

1. Färbung mit Löffler'schem Methylenblau je nach der Dicke und der Vorbehandlung 5 Minuten bis 2 Stunden.
2. Abspülen in Wasser.
3. Eintauchen in 0,5—1%ige Essigsäurelösung, höchstens ½ Minute.
4. Gründliches Extrahiren in 90%igem Alkohol 2—5 Minuten.
5. Absoluter Alkohol zur Entwässerung. Xylol. Kanadabalsam.

Bei sehr schwer färbbaren Bakterien (s. oben) sucht man die Essigsäurelösung möglichst zur Differenzirung zu vermeiden, was bei sehr dünnen Schnitten gelingt.

d) Neisser'sche Methode für die Färbung der Diphtheriebacillen.

Man verwendet Kulturen, die 9—24 Stunden auf Löffler'schem Rinderblutserum bei 36° Celsius gewachsen sind, folgendermassen:

1. Das Deckgläschentrockenpräparat kommt für 1—3 Sekunden in alkoholische Methylenblaulösung (1:20 Ccm. Alkohol 90%) 20 Ccm., destillirtes Wasser 950,0, Eisessig 30,0.
2. Abspülen in Wasser.
3. Eintauchen in 0,2%ige heiss bereitete und filtrirte wässerige Vesuvinlösung 3 bis 5 Sekunden.
4. Abspülen in Wasser. Lufttrocknen und Kanadabalsam.

Die Bacillen sind braun und haben im Innern 2—4 blaue Körnchen, meist an den Polen. Besonders häufig liegen zwei Bacillen stumpfwinklig aneinander.

e) Methylenblaulösung (koncentrirt wässerig) wird ausserdem stets zur Gegenfärbung der rothen Tuberkelbacillenfärbungen benutzt.

f) Nikiforoff's Methode zur Färbung der Rekurrensspirillen.

Da sich die Spirillen auch in Löffler'scher Lösung schwer färben, so empfiehlt Nikiforoff folgende Methode: Härtung der Gewebe in einem Gemisch zu gleichen Theilen von 5%iger wässeriger Lösung von Kalium bichromicum und gesättigter Lösung von Sublimat in physiologischer Kochsalzlösung, 24 Stunden. Nachhärten in Alkohol von steigender Koncentration. Paraffineinbettung.

Färbung:

1. Koncentrirte wässerige Methylenblaulösung 10,0, 1%ige alkoholische Tropaeolinlösung 5,0, Kalilauge (0,1%ig) 2 Tropfen 24 Stunden.
2. Abspülen.
3. Entwässern in einem Gemisch von Aether und Alkohol absol. zu gleichen Theilen.
4. Bergamottöl, Xylol, Kanadabalsam.

2. Methylenblau als Kernfärbung.

Man verwendet ziemlich koncentrirte wässerige Lösungen, färbt die Schnitte einige Minuten, wäscht mit Wasser gründlich, dann mit Alkohol aus und bettet in Kanadabalsam ein; sehr zarte Kernstrukturen. Bei gewissen Degenerationen tritt, wie Ehrlich gezeigt hat, zuweilen ein eigenthümlicher Kernzerfall auf; die chromatophile Substanz zieht sich in Gestalt mehrerer kleiner, intensiv gefärbter Kügelchen zusammen.

3. Methylenblau zur Darstellung von Zellgranulis.

a) Der Mastzellengranula (Ehrlich), siehe Mastzellen, Metachromasie,
b) des Granoplasma der Plasmazellen (Unna), siehe Plasmazellen
c) des Leibes und des Kernkörperchens der Lymphocyten, siehe Blut,
d) der Nissl'schen Granula mittels der Methylenblauseifenlösung (Methylenblau B 3,75, Venetianische Seife 1,75, Aq. destill. 100,0), siehe Nervensystem, centrales.

4. Methylenblau zur Färbung der Malariaparasiten (auch in Schnitten), siehe Malaria.

5. Methylenblau zur vitalen Färbung nach Ehrlich, siehe Methylenblau zur Nervenfärbung.

Methylenblau-Orceinmethode (Unna) siehe Haut.
Polychromes Methylenblau (Unna) siehe Metachromasie.

Litteratur: Bernthsen (Liebig Annal., Bd. 230 u. 251), G. Schultz (Chemie des Steinkohlentheers, 1. Aufl., Braunschweig, pag. 1046), Ehrlich (Zeit. klin. Med., Bd. 2, 1881), Nakanishi (Münch. med. Woch., 1901), Neisser (Zeit. Hyg., Bd. 24, 1897). *Rosin*, Berlin.

Methylenblau zur Nervenfärbung. Das Methylenblau erhielt eine ausgedehnte Verbreitung in der mikroskopischen Technik erst vom Jahre 1885, als Ehrlich auf Grundlage seiner Beobachtungen den Nachweis lieferte, dass dasselbe, in genügender Menge in die Blutbahn des lebenden Thieres eingeführt, die Fähigkeit besitzt, die Nervenelemente — die Nervenzellen mit sammt den Fortsätzen und deren feinsten Verzweigungen zu färben. Das Färbevermögen des Methylenblaus erklärte Ehrlich durch die Anwesenheit von S in demselben, wie es auch hinsichtlich anderer S enthaltender Anilinabkömmlinge, zu denen Thionin, Dimethylthionin u. a. gehören, beobachtet wird. Ehrlich führte dem lebenden Thiere in die Blutgefässe oder in das Herz eine Methylenblaulösung (1 Grm. Farbstoff wurde in 300—400 Ccm. physiologischer Kochsalzlösung gelöst) ein; nach Verlauf einer kurzen Zeit schnitt er aus dem lebenden oder soeben getödteten Thiere kleine Organ- oder Gewebsstücke heraus, brachte dieselben auf ein Objektglas deckte die Präparate mit einem Deckglas zu und untersuchte sie unter dem Mikroskop. In der Regel erfolgte bald eine allmähliche Entfärbung der anfangs intensiv gefärbten Nervenelemente; sobald jedoch das Deckglas entfernt und der Luft freier Zutritt zum Präparat gegeben wurde, fand sofort wieder eine Bläuung, d. h. eine abermalige Färbung der Nerven statt. Ehrlich gelang es, viele Nerven mit Methylenblau zu färben, z. B. sämmtliche sensiblen Fasern, die Nervenendigungen in glatten und einigen quergestreiften Muskeln u. dergl. m.; dabei machte er jedoch die Beobachtung, dass sich dennoch nicht alle Nerven des betreffenden Organs oder Gewebes färbten. Den Grund dafür sah Ehrlich darin, dass seiner Meinung nach für die Färbung eine alkalische Reaktion und eine Sättigung der Nerven mit Sauerstoff erforderlich ist — sind diese Bedingungen in den betreffenden Nerven nicht gegeben, so färben sich dieselben mit Methylenblau nicht.

H. Aronson, ein Schüler Ehrlich's, setzte die Untersuchungen des letzteren fort und wies darauf hin, dass das Methylenblau durch verschiedene reducirende Agentien unter Aufnahme zweier H-Atome in Leukomethylenblau übergeführt wird, welches bei Luftzutritt von neuem in das blaue Oxydationsprodukt umgewandelt wird. Zu Lebzeiten sind die Nerven dermassen mit Sauerstoff gesättigt, dass sie das aufgenommene Methylenblau nicht reduciren; nach dem Tode des Thieres werden die Nerven farblos; sobald jedoch die Luft und folglich auch der Sauerstoff freien Zutritt zu den Geweben erhält, so wird das Leukomethylenblau von neuem oxydirt und in das blaue Oxydationsprodukt umgewandelt. Die Gewebe der höheren Wirbelthiere besitzen nach den Beobachtungen von Aronson eine grössere Reduktionsfähigkeit als die Gewebe der Kaltblüter.

In Anbetracht der grossen Bedeutung der neuen Methode für das Studium des peripheren und centralen Nervensystems schlug K. Arnstein, Smirnow vor, eine Reihe von Nachprüfungen anzustellen. Dieselben wurden zunächst nur an Fröschen vorgenommen, zu welchem Zweck dem Thiere 1 Ccm. einer gesättigten Methylenblaulösung in die Vena cutanea magna eingeführt und nach Verlauf von 1—2 Stunden verschiedene Organe, wie Muskeln, Hornhaut, sympathische Ganglien u. a. ausgeschnitten und der mikroskopischen Untersuchung unterzogen wurden. Es erwies sich dabei, übereinstimmend mit den Beobachtungen Ehrlich's, dass die Endigungen der motorischen Nerven, die Spiralfasern und deren feinsten Endausbreitungen auf der Oberfläche der sympathischen Zellen u. a. eine prachtvolle Blaufärbung erhalten. Von mir und K. Arnstein wurden alsdann Versuche mit Einführung des Methylenblaus unmittelbar ins Blut von Säugethieren und

Vögeln angestellt; nach den ersten Versuchen musste jedoch konstatirt werden, dass die Thiere die Infusion des Farbstoffes besonders in grossen Mengen schlecht vertragen. Werden z. B. einem Kaninchen im Verlauf von 10 Minuten 4 PRAVAZ'sche Spritzen einer gesättigten Methylenblaulösung in die Vena cruralis eingeführt, so geht das Thier nach der Injektion der 4. Spritze zugrunde*. Die Untersuchung verschiedener Organe dieser Thiere ergab blos eine unvollständige Färbung der Nerven in denselben.

Die bei einer Infusion des Farbstoffes in das lebende Thier konstatirten Unbequemlichkeiten, das rasche (nach 5—10 Minuten) erfolgende Abblassen und Verschwinden der Nervenfärbung sowie die Nothwendigkeit, die gefärbten Präparate ausschliesslich im frischen Zustande zu untersuchen, veranlassten die Forscher, erstens eine Vereinfachung des Färbungsverfahrens der Nerven anzustreben und zweitens ein Mittel zu finden, welches die Farbe in den Nerven und gleichzeitig auch diese zu fixiren imstande wäre und damit die Möglichkeit geben würde, die Präparate einer längeren und sorgfältigeren Untersuchung zu unterziehen. Die erste der erwähnten Unbequemlichkeiten wurde bald durch mich beseitigt: anstatt einer Infusion der Farbstofflösung in die Gefässe des lebenden Thieres machte ich eine Injektion einer gesättigten Methylenblaulösung in die Blutgefässe des frisch getödteten Thieres, worauf Stücke des einen oder anderen Gewebes ausgeschnitten und für einige Zeit in Berührung mit der Luft gebracht wurden. Die alsbald nach der Injektion blau gewordenen Gewebe blassten in der Regel rasch ab, so dass in denselben keine blaugefärbten Nerven mehr wahrgenommen werden konnten; dieselben begannen jedoch sich allmählich von neuem zu färben, sobald sie mit der Luft in Berührung kamen. Nachdem ich die Nervenfärbung vermittels eines einfacheren als des von EHRLICH anfangs vorgeschlagenen Verfahrens erreicht hatte, bemühte ich mich, dasselbe noch mehr zu vereinfachen und zugänglicher zu machen, und zwar insofern, als ich die den frisch getödteten Thieren entnommenen Organe und Gewebe durch direktes Einwirken mit Farbstofflösungen verschiedener Koncentration zu färben suchte. Die ersten Versuche führte ich zu dem Zweck zunächst an der Netzhaut, der Iris, der Hornhaut und anderen Organen verschiedener Thiere aus, wobei dieselben ein durchaus günstiges Resultat ergaben: ich erzielte auf diesem Wege eine ebenso vollständige Nervenfärbung, wie sie mit dem EHRLICH'schen Verfahren, sowie mit der Injektion des Farbstoffes in die Gefässe des Thieres erreicht wird. Seit der Zeit gewann die Anwendung des Methylenblaus für die Nervenfärbung eine weite Verbreitung in der Histologie und gab, dank den Arbeiten von ARNSTEIN und seinen Schülern, RETZIUS, mir, RAMON-Y-CAJAL, BETHE, HUBER und vielen anderen glänzende Resultate besonders hinsichtlich des Studiums des peripheren Nervensystems; augenblicklich steht dieses Färbungsverfahren in einer Reihe mit der Versilberungsmethode von GOLGI und der Vergoldungsmethode von APÁTHY.

Im Handel giebt es verschiedene Sorten von Methylenblau, die wichtigsten derselben sind:

a) Methylenblau nach EHRLICH.
b) Methylenblau nach KOCH,
c) Methylenblau B. X. (nach S. MAYER),
d) Methylenblau medic. pur.

Für die Färbung der Nerven können sämmtliche Sorten von Methylenblau mit Erfolg angewandt werden; es werden freilich hin und wieder Klagen darüber geäussert, dass diese oder jene Sorte des Farbstoffes keine be-

---

* Nach den Beobachtungen von ARONSON vertragen Kaninchen je nach der Grösse die Infusion von 40—90 Ccm. einer $^1/_4$%igen Methylenblaulösung.

friedigenden Resultate giebt, doch hängt dieses, wie es mir meine langjährige Erfahrung gezeigt hat, nicht so sehr von der Eigenschaft der färbenden Substanz, als vielmehr von anderen Bedingungen ab. Nichtsdestoweniger geben die beständigsten Resultate die Färbung mit dem Methylenblau nach EHRLICH oder B. X. (nach S. MAYER), welche ich von Dr. GRÜBLER in Leipzig beziehe.

Das Methylenblau wird in Lösungen oder in Substanz angewandt. Als Lösungsmittel dient physiologische Kochsalzlösung, wobei jedoch, wie weiter unten gezeigt werden soll, die Farbstofflösungen von verschiedener Koncentration sein müssen, je nach dem im gegebenen Fall anzuwendenden Färbungsverfahren. Am vortheilhaftesten ist es, eine $1\,^0/_0$ige Methylenblaulösung vorräthig zu halten, aus welcher jederzeit leicht schwächere Lösungen dargestellt werden können. Das zu den Lösungen benutzte Kochsalz muss chemisch rein, sowie das Wasser nach Möglichkeit gut destillirt sein. Die zum Aufbewahren der Lösungen bestimmten Gefässe sind vorher sorgfältig zunächst mit starker Salz- oder Salpetersäure, darauf mit Wasser, Alkohol und physiologischer Kochsalzlösung auszuwaschen. Vor der Anfertigung schwächerer Lösungen aus einer $1\,^0/_0$igen Lösung ist es erforderlich, letztere zu erwärmen, um den geringen Niederschlag, welcher sich nach einer gewissen Zeit beim Stehen der Lösung bildet, aufzulösen. Sobald sich in den dermassen hergestellten, schwächeren Lösungen ein wenn auch unbedeutender Niederschlag bemerkbar macht, müssen dieselben vor ihrem Gebrauch desgleichen erwärmt und filtrirt werden. Noch besser ist es, die schwächeren Lösungen einige Stunden vor ihrem Gebrauch aus der $1\,^0/_0$igen Lösung anzufertigen.

Eine unerlässliche Bedingung für eine mehr oder weniger vollständige Färbung der Nerven mit Methylenblau ist die Frische des zu färbenden Organs oder Gewebes: dasselbe muss dem frisch getödteten Thier oder maximum 1—2 Stunden nach dem Tode demselben entnommen werden. Zuweilen wird freilich eine gute Färbung der Nerven beim Menschen und den höheren Thieren selbst mehrere Stunden nach dem Tode erhalten, während bei niederen Thieren: Amphibien, Reptilien u. a., die Nerven das Färbungsvermögen noch bedeutend länger — sogar einige Tage nach dem Tode des Thieres beibehalten, doch wird in derartigen Fällen niemals eine dermassen gute und vollständige Nervenfärbung erzielt, wie an frischen, sozusagen noch lebenden Geweben.

Das für die Nervenfärbung bestimmte Thier wird durch Entbluten, in Ausnahmefällen durch Chloroform getödtet. Die Färbung der Nerven wird in den zu untersuchenden Organen und Geweben nach verschiedenen Verfahren vorgenommen, wobei die einen bessere Resultate an einer Gewebsart, andere wiederum an anderen Geweben geben.

I. Färbungsverfahren.

Ich wende folgende Färbungsverfahren an:

a) Injektion der Blutgefässe des Thieres mit einer $^1/_4$—$^1/_6\,^0/_0$igen Methylenblaulösung; die Anwendung stärkerer $^1/_2$—$1\,^0/_0$iger Lösungen ist mindestens überflüssig, in vielen Fällen sogar durchaus nicht erwünscht. Starke Lösungen diffundiren durch die Gefässwandungen und färben nicht nur die Axencylinder der Nervenfasern mit deren Endverzweigungen, sowie die Nervenzellen, sondern auch gleichzeitig die Elemente des umgebenden Gewebes (Bindegewebsfibrillenbündel, Zellen des fibrillären Bindegewebes, Fett, Pigmentkörnchen, elastische Fasern, Muskelfasern u. a.), wodurch die Untersuchung der Nerven selber mehr oder weniger erschwert wird.

b) Einführung einer $^1/_4$—$^1/_8\,^0/_0$igen Methylenblaulösung in die Körperhöhlen oder in die Hohlräume der Organe.

c) Injektion einer $^1/_6$—$^1/_8$%igen Farbstofflösung unter die Haut des Thieres oder in das, das zu untersuchende Organ umgebende Bindegewebe.

d) Unmittelbare Färbung des ausgeschnittenen Organs oder von Theilen desselben mit einer $^1/_4$—$^1/_6$—$^1/_8$%igen Methylenblaulösung.

Bei den drei letzteren (*b*, *c*, *d*) Verfahren giebt die Anwendung stärkerer Lösungen ($^1/_2$—1—4%) des Farbstoffes fast gar keine oder sehr schlechte Resultate, da dabei in den zu untersuchenden Organen eine recht intensive Färbung anderer Gewebselemente erfolgt, so dass die Untersuchung der Nerven fast unmöglich ist.

a) Injektion der Blutgefässe. Dieses Verfahren der Methylenblaufärbung eignet sich gewöhnlich für die Untersuchung der Nerven in verschiedenen Organen und Geweben der Wirbelthiere. Bei grossen Thieren (Hund, Katze, Kaninchen u. a.) wird gewöhnlich ein Körpertheil oder ein einzelnes Organ durch ein entsprechendes, grosses, arterielles Gefäss injicirt. Bei kleinen Thieren (Ratte, Maus u. a.) wird die Injektion vom Herzen aus vorgenommen (die Kanüle wird durch die linke Herzkammer in die Aorta eingeführt), wobei mit der Farbstofflösung sämmtliche Gefässe des Thieres gefüllt werden. In beiden Fällen müssen behufs erfolgreicher Nervenfärbung erstens die Gefässe vorher sorgfältig mit einer auf 36—37° C. erwärmten physiologischen Kochsalzlösung ausgespült werden, wonach erst die Injektion der desgleichen ungefähr bis zur Körpertemperatur des Thieres erwärmten Methylenblaulösung von der angegebenen Koncentration vorgenommen werden kann. Zweitens muss die Injektion möglichst vollständig sein, d. h. es müssen nicht nur die Arterien mit ihren feinsten Verzweigungen, sondern auch die Kapillaren und Venen gefüllt sein.

Die Menge der für eine vollständige Injektion eines Thieres oder eines Organs erforderlichen Methylenblaulösung ist durchaus von der Grösse des Thieres oder des betreffenden Organs abhängig und kann infolge dessen nicht für jeden einzelnen Fall genau bestimmt werden. Im allgemeinen kann die Injektion als gelungen angesehen werden, wenn sich die Haut des injicirten Gebietes oder das betreffende Organ gebläut hat.

20 bis 30 Minuten nach der Injektion wird das Organ oder Gewebe, dessen Nerven untersucht werden sollen, je nach der Grösse entweder in toto herausgenommen oder aber aus demselben werden Stücke von 1—2—3 Cm. Seite herausgeschnitten und alsdann in eine flache Petri-sche oder eine tiefere Schale auf eine dünne Schicht Glaswolle oder aber unmittelbar auf breite Objektgläser gebracht; letztere werden desgleichen in entsprechend grosse flache Schalen gelegt. Die Glaswolle wird vorher mit einer schwachen ($^1/_8$—$^1/_{15}$%igen) Methylenblaulösung angefeuchtet; desgleichen muss auch auf dem Boden der Schale eine geringe Menge derselben Lösung vorhanden sein. Die Schale wird alsdann mit einem nicht festschliessenden Deckel zugedeckt und im Thermostaten (bei einer Temperatur von 35—36° C.) aufgestellt. Im Thermostaten verbleibt das Präparat 15—30 Minuten oder auch 1—1$^1/_2$—2 Stunden, je nach der Grösse und Beschaffenheit des betreffenden Organs.

Der Färbungsprocess verläuft um so langsamer, je dicker das zu färbende Organ oder Organstück ist. Im Verlauf der ganzen Färbungsdauer muss darauf geachtet werden, dass die Oberfläche des Präparates nicht eintrocknet. Die in der Schale befindliche geringe Menge der Methylenblaulösung verdunstet allmählich und verhindert gewöhnlich das Eintrocknen der Oberfläche des Präparates; erweist sich diese Flüssigkeitsmenge als ungenügend, so muss das Präparat von Zeit zu Zeit mit einer $^1/_{15}$%igen Farbstofflösung oder einfach mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtet werden.

Nach Verlauf der angegebenen Zeit wird das Präparat aus dem Thermostaten genommen und das Methylenblau nach einem der weiter unten angegebenen Verfahren fixirt. Während der Färbung wird das Präparat, wenn es nur die Dicke desselben gestattet, in bestimmten Zeiträumen (5—10—15 Minuten) bei schwacher Vergrösserung unter dem Mikroskop betrachtet und auf diese

Weise der allmähliche Verlauf der Nervenfärbung kontrollirt; sobald die Nerven genügend gefärbt erscheinen, wird das Präparat sofort fixirt. Hat man es jedoch mit einem ganzen Organ oder mit dicken Präparaten zu thun, so kann natürlich die Färbung nicht verfolgt werden; die Dauer des für die Nervenfärbung erforderlichen Verbleibs der Präparate im Thermostaten kann in derartigen Fällen nur durch die Erfahrung festgestellt werden. Nach meinen Beobachtungen an verschiedenen Organen schwankt die für die Nervenfärbung erforderliche Zeitdauer, wie oben angegeben, zwischen 15—30 Minuten (für feine Häute, Schnitte u. dergl.) und 1—$1^1/_2$—2 Stunden (für dicke Präparate).

Bisweilen färben sich jedoch die Nerven äusserst schwach, sei es nun infolge einer unvollständigen Injektion der Blutgefässe mit der Farbstofflösung oder aus einem anderen Grunde; in derartigen Fällen muss eine Ergänzungsfärbung der Nerven vorgenommen werden, zu welchem Zweck die Oberfläche der Präparate in gewissen Zeiträumen mit einer $^1/_8$ bis $^1/_{10}$%igen Methylenblaulösung befeuchtet wird, d. h. die Färbung erfolgt durch unmittelbare Einwirkung des Farbstoffs auf das ausgeschnittene Organ (das Genauere cf. Färbungsverfahren *d*).

Durch das beschriebene Färbungsverfahren lässt sich eine Nervenfärbung in fast sämmtlichen Geweben und Organen der höheren Wirbelthiere erzielen: im Epithel, im fibrillären Bindegewebe, in glatten und quergestreiften Muskeln, in Blutgefässen, im Herzen u. s. w. An einigen wenigen Organen giebt dieses Verfahren jedoch fast gar keine Resultate; zu derartigen Organen gehören die Lymphknoten, die Milz, die Nieren u. a., die Elemente des Centralnervensystems färben sich desgleichen schlecht. An menschlichem Material ist das beschriebene Verfahren fast nicht anwendbar, da ein für die Nervenfärbung taugliches Objekt blos in Form bereits ausgeschnittener Organe erhalten werden kann. Dagegen lässt es sich sehr gut an frisch amputirten Extremitäten, und zwar für die Färbung der Haut, Muskel- und Gefässnerven etc. anwenden. Sind die mit Methylenblau injicirten Organe von derber, fester Konsistenz, wie z. B. die Haut, die Wachshaut und die Gaumenschleimhaut der Wasservögel, die Leber u. dergl., so können von denselben 10—15 Minuten nach der Injektion Schnitte angefertigt werden. Zu dem Zweck wird ein Stück des Organs in Hollundermark oder in Leber eingeschlossen und von demselben alsdann mit einem scharfen Rasirmesser möglichst feine Schnitte aus freier Hand gemacht. Die Schnitte werden auf breite, vorher mit $^1/_{15}$%iger Methylenblaulösung oder mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchtete Objektträger übertragen und auf diesen in flachen, nicht fest zugedeckten Schalen in den Thermostaten gebracht. Um das Eintrocknen der Schnitte zu verhüten, wird in jede Schale ein Stück mit Wasser angefeuchteten Fliesspapiers gebracht. Nach je 3—5 Minuten werden die Schnitte unter dem Mikroskop betrachtet und sobald die Nerven genügend gefärbt erscheinen, fixirt.

Bei Kaltblütern (Reptilien, Amphibien, Fischen) wird die Injektion der Blutgefässe mit einer $^1/_4$—$^1/_8$%igen Methylenblaulösung durch den Bulbus aortae vorgenommen, wobei die Lösung natürlich nicht erwärmt zu werden braucht, wie bei der Injektion der Blutgefässe von Warmblütern; das Blut ist jedoch aus den Blutgefässen zu entfernen. Das Thier, z. B. ein Frosch, wird gewöhnlich durch Zerstörung des Rückenmarks oder durch Chloroform getödtet und alsdann auf eine Korkplatte oder ein Brett aufgebunden oder aufgesteckt. Darauf wird vorsichtig die Brusthöhle eröffnet, das Herz freigelegt, durch die Herzkammer die Nadel einer Pravaz'schen Spritze oder eine dünne Kanüle in den Bulbus aortae eingeführt und 2—3 Spritzen der Farbstofflösung von genannter Koncentration injicirt. Nach $^1/_2$—1—2 Stunden wird das zu untersuchende Organ dermassen freigelegt (jedoch nicht herausgeschnitten), dass die Luft freien Zutritt zu demselben hat und alsdann nach weiteren 20—30 Minuten herausgeschnitten und das Methylenblau fixirt. Es ist ohne weiteres klar, dass bei diesem Verfahren die Nerven

nur derjenigen Organe gefärbt werden, die leicht in unmittelbare Berührung mit der Luft gebracht werden können, wie z. B. die Zunge, die Speiseröhre, der Darmkanal, die Lungen u. dergl.

Aehnliche Resultate können auch durch folgende Modifikation des Verfahrens erreicht werden: sofort nach Einführung der angegebenen Menge von Methylenblau in das entsprechende Gefäss wird die Körperhöhle eröffnet, das betreffende Organ freigelegt, nach Verlauf von 10—15—20 Minuten herausgeschnitten, auf ein Objektglas oder in eine Glasschale gebracht und die Oberfläche desselben entweder mit einer $^1/_{15}$ %igen Methylenblaulösung oder mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchtet; von Zeit zu Zeit wird das Präparat bei schwacher Vergrösserung unter dem Mikroskop betrachtet. Sobald die Nerven genügend gefärbt erscheinen, was gewöhnlich nach 40—50—60 Minuten der Fall ist, wird das Präparat fixirt. Dieses Verfahren eignet sich besonders für die Färbung der motorischen Nervenendigungen in den Muskeln der Speiseröhre, der Spiralfasern und deren Endigungen in den sympathischen Ganglien, sowie der Nervenelemente der Retina u. a. Besitzt das zu untersuchende Organ einen Hohlraum wie der Darmkanal, die Harnblase u. a., so ist es behufs Färbung der Nerven am besten, die Organe zu eröffnen, oder falls sie von beträchtlicher Grösse sind, dieselben vorher in mehrere Stücke zu zerschneiden, sie alsdann auf ein Objektglas oder in eine Glasschale mit der äusseren oder inneren Fläche nach oben, je nachdem, ob die Färbung der Nerven in der Muskelschicht oder in der Schleimhaut bezweckt wird, zu bringen. Zwecks Färbung der Netzhaut wird der vordere Abschnitt des Augapfels (in der Nähe der Uebergangsstelle der Sklera in die Hornhaut) abgeschnitten, die Linse entfernt und die Retina vorsichtig mit dem derselben anhaftenden Glaskörper herausgenommen. Die Netzhaut wird alsdann auf einem breiten Objektglas ausgebreitet, von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop betrachtet, bis eine genügende Färbung der Nervenelemente in derselben erfolgt; darauf wird das Präparat fixirt (cf. weiter unten — Fixirung).

Das Verfahren der Nervenfärbung vermittels einer Injektion der Blutgefässe kann auch bei denjenigen wirbellosen Thieren mit Erfolg angewandt werden, welche, wie z. B. die Crustaceen, ein abgesondertes Blutgefässsystem besitzen, wobei die Injektion vom Herzen aus, wie bei den niederen Wirbelthieren, vorgenommen wird.

Die einzelnen Forscher wenden für die Injektion der Blutgefässe Methylenblaulösungen der verschiedensten Stärke an, einige von ihnen ziehen stärkere, andere schwächere Lösungen vor. Arnstein injicirt die Gefässe bei Warmblütern mit einer starken 4%igen Methylenblaulösung in physiologischer Kochsalzlösung. Smirnow benutzt zu gleichem Zweck desgleichen vorwiegend 4—1%ige Lösungen; in seltenen Fällen injicirt er eine $^1/_2$ %ige Farbstofflösung. Die Schüler von Arnstein, W. Iwanoff, A. Ploschko, D. Timofejew wandten fast ausschliesslich eine 1%ige Methylenblaulösung an, mit welcher sie die besten Resultate erzielten. Eine gleich starke Methylenblaulösung benutzten auch G. Retzius, G. C. Huber, Lydia de Witt u. a. Die Mehrzahl der genannten Forscher erwärmte die Farbstofflösung vor der Injektion entweder auf 40° C (Iwanoff) oder auf 37—38° C (Ploschko) oder auf 30—35° C (Timofejew) und filtrirten dieselbe. Nach 10—15 Minuten wurden alsdann Stücke des zu untersuchenden Organs herausgeschnitten, auf Objektgläser gebracht, von Zeit zu Zeit mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchtet und bei schwacher Vergrösserung unter dem Mikroskop untersucht. Die Färbung der Nerven erfolgte gewöhnlich nach 20—25 Minuten oder nach 1—$1^1/_2$ Stunden. Von derben, festen Organen wurden sofort Schnitte angefertigt und diese zwecks weiterer Färbung auf Objektgläser gebracht. In einigen Fällen feuchteten die erwähnten Autoren die herausgeschnittenen Organe oder die Schnitte mit einer Methylenblaulösung von 1:5000 oder mit einer $^1/_{16}$ %igen Lösung an, d. h. sie machten eine Ergänzungsfärbung.

Zur Injektion der Blutgefässe von Kaltblütern sind Methylenblaulösungen verschiedener Stärke angewandt worden. Pal führte in die V. cutanea magna oder die V. abdominalis eines Frosches eine $^1/_2$ %ige, Smirnow desgleichen in die V. cutanea magna oder V. abdominalis von Fröschen (Rana temporaria

oder Rana esculenta) und in die V. abdominalis von Kröten (Bufo vulgaris) eine 1—4%ige (1/2—1 PRAVAZ'sche Spritze), ARONSON und GERLACH in die Aorta oder Bauchvene eines Frosches eine 1/4%ige Lösung ein. In fast allen Fällen wurden die zu untersuchenden Organe 1/4—1/2 Stunde nach der Injektion freigelegt und der Luft ausgesetzt, alsdann nach weiteren 1 1/2—2—3, bisweilen auch 4 Stunden herausgeschnitten und fixirt; oder aber dieselben wurden zunächst auf Objektträger gebracht, mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchtet und von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop beobachtet. Sobald die Färbung der Nerven genügend scharf war, erfolgte die Fixirung des Präparates. In gewissen Ausnahmefällen, z. B. zwecks Färbung des geraden Fortsatzes der sympathischen Nervenzellen, wandten einige Forscher (SMIRNOW) das von ARNSTEIN »prolongirte Färbung« genannte Verfahren an. Dem Frosch wurden auf erwähnte Weise 1—2 PRAVAZ'sche Spritzen einer 2- bis 4%igen Methylenblaulösung eingeführt und das Thier darauf für 1, 2, 3 und gar 4 Tage in den Keller auf Eis gelegt. Nach Verlauf der genannten Zeit wurde die Körperhöhle eröffnet, das zu untersuchende Organ freigelegt, der Luft ausgesetzt, alsdann nach 2—4 Stunden herausgeschnitten und fixirt.*

Das von EHRLICH anfänglich vorgeschlagene Verfahren der vitalen Nervenfärbung vermittels Einführung des Farbstoffs in die Blutbahn des Thieres wird gegenwärtig fast ausschliesslich bei niederen Wirbelthieren, am häufigsten beim Frosch, angewandt.

Die Injektion der Gefässe mit starken 1—4%igen Methylenblaulösungen, wie sie von vielen Forschern geübt wird, halte ich für überflüssig und sogar unzweckmässig. Es genügen zu dem Zweck vollkommen 1/4 bis höchstens 1/2%ige Lösungen, da eine erfolgreiche Nervenfärbung nicht von der Stärke der Lösung, sondern von anderen, zum Theil bekannten, zum Theil noch nicht klargelegten Bedingungen abhängt. Zur Zeit steht fest, dass für eine gute Nervenfärbung folgende Bedingungen erfüllt sein müssen: eine vorhergehende Entfernung des Blutes aus den Gefässen, eine nach Möglichkeit vollständige Injektion letzterer mit der auf 36—37° C erwärmten (für die Injektion an Warmblütern) Farbstofflösung, der freie Zutritt von Luft zu den zu färbenden Organen, ein richtiges Abpassen des Zeitpunktes für die Fixirung der gefärbten Nerven, sowie die Frische des betreffenden Organs. Die letztere Bedingung ist übrigens augenscheinlich nicht immer unbedingt erforderlich, da eine Nervenfärbung beim Menschen bisweilen 9 Stunden nach dem Tode erfolgt; bei der Katze wird eine Nervenfärbung in den PACINI-schen Körperchen sogar dann noch erhalten, wenn das mit Methylenblau injicirte Mesenterium 18—24 Stunden in der Kälte (in dem Eiskeller) gelegen hat (A. SOKOLOFF). Bei Kaltblütern findet eine Nervenfärbung noch viel geraumere Zeit nach dem Stillstand des Herzens, als bei den Warmblütern, statt; in den abgeschnittenen Extremitäten des Frosches färben sich die Nerven noch nach 3—8 Tagen.

b) Einführung des Methylenblaus in Körperhöhlen und Organhohlräume. Bei Warmblütern kann eine 1/4—1/8%ige, auf 36—37° C erwärmte Methylenblaulösung in die Pleurahöhle, die Perikardialhöhle, die Peritonealhöhle oder in die Schädelhöhle (unter die harte Hirnhaut) injicirt werden. Die Menge der einzuführenden Lösung hängt von der Grösse des Thieres ab; bei einem Kaninchen genügt z. B. die Injektion von 30—40 Ccm. in die Bauch- oder Brusthöhle. Nach derselben wickelt man das Thier in erwärmte Tücher ein; nach 20—30 Minuten werden alsdann Stücke des zu untersuchenden Organs oder Gewebes ausgeschnitten und im Thermostaten nach der oben angegebenen Weise (cf. *a*) zu Ende gefärbt. Sofort nach der

* Die angegebenen Färbungsverfahren der Nerven bei Kaltblütern stellen im Grunde genommen eine Kombination einer Infusion mit einer Injektion dar.

Einführung des Farbstoffs in den Bauchraum oder die Pleurahöhle muss das Thier mehrfach geschüttelt werden zwecks gleichmässiger Vertheilung des Farbstoffes in den Hohlräumen; 10 Minuten vor der Eröffnung der Höhlen behufs Herausnahme der zu untersuchenden Organe muss der Ueberfluss der Lösung aus einer, irgendwo an der unteren (hinteren) Wand (bei Rückenlage des Thieres) angebrachten Oeffnung entfernt werden.* Bei Einführung einer Methylenblaulösung in eine Körperhöhle von Kaltblütern (Amphibien, Reptilien und Fischen) wird die Lösung vor der Injektion nicht erwärmt; desgleichen werden die Organe nicht herausgeschnitten, sondern blos freigelegt und der Luft bei gewöhnlicher Zimmertemperatur ausgesetzt.

Bei höheren Wirbelthieren findet das beschriebene Verfahren erfolgreiche Anwendung für die Nervenfärbung in dem parietalen und visceralen Bauch- und Brustfellblatt, im Perikard, in der Herzwandung, in den Lungen, in der Darmwand, der Gallenblasenwand, in der weichen und harten Hirnhaut und dergl.; bei niederen Wirbelthieren kann dieses Verfahren ausserdem noch für die Nervenfärbung in den Nieren, in den sympathischen Ganglien (Frosch u. a.) angewandt werden.

Sehr viel Verwendung hat dieses Färbungsverfahren bei Wirbellosen gefunden: G. Retzius wandte es bei Krustaceen an, indem er ins Abdomen von Garneelen 2—3 Ccm. einer 0,2%igen Methylenblaulösung einführte, darauf den Hautdeckel des Abdomens entfernte und das Thier in eine geschlossene Schale brachte. Nach 12—20 Stunden erfolgte bereits eine Färbung der Nervenelemente (Nervenzellen und Nervenfasern). Beim Flusskrebs färben sich die Nerven nach 18, 20—24 Stunden. Nach Einspritzung einer 0,1—0,2%igen Methylenblaulösung in die Leibeshöhle von Polychäten (Nereis diversicolor u. a.) erhielt Retzius eine Färbung der Sinnesnervenzellen in der Haut der Körpersegmente und in den Kopfcirrhen. J. Nussbaum und W. Schreiber lösten 1 Grm. Methylenblau und 1,5 Grm. Kochsalz in 300 Ccm. destillirten Wassers; 3—4 Ccm. dieser Lösung führten sie theilweise unter dem Cephalothoraxpanzer von der Rückenseite aus, theilweise von der ventralen Seite des Abdomens aus ein und erhielten eine Nervenfärbung nach Verlauf von 2—4 Stunden.

Nach den Angaben von Mayer können Methylenblaulösungen schliesslich auch in die Hohlräume verschiedener Organe, wie Lungen, Darm, Harnblase u. a., eingeführt werden, wobei eine gute Nervenfärbung stattfinden soll; nach meinen Beobachtungen giebt dieses Verfahren in der Mehrzahl der Fälle ungenügende Resultate, infolgedessen ich selber es sehr selten anwende.

c) I n j e k t i o n e i n e r $^1/_6$—$^1/_8$%igen M e t h y l e n b l a u l ö s u n g u n t e r d i e H a u t e i n e s T h i e r e s o d e r i n d a s, d a s z u u n t e r s u c h e n d e O r g a n u m g e b e n d e B i n d e g e w e b e. Die subkutane Farbstoffinjektion zwecks Färbung der Nervenelemente führten Kühn, Joseph, Buchaloff, Korolkoff, Markowitin und zum Theil S. Meyer aus; auch ich habe dieses Verfahren recht häufig angewandt; besonders geeignet ist es für die Nervenfärbung bei niederen Wirbelthieren (Reptilien, Amphibien u. a.). Zu dem Zweck werden 1—2 Pravaz'scher Spritzen einer $^1/_6$—$^1/_8$%igen Methylenblaulösung einem schräg gelagerten Frosch unter die Bauch- oder Rückenhaut oder unter die Extremitätenhaut eingeführt. Nach 30—60 Minuten wird ein Hautstück, oder die Bauchwandung nach vorheriger Entfernung der Haut, oder irgend ein Muskel, z. B. M. sartorius, herausgeschnitten, auf einen breiten Objektträger gebracht und von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop bei schwacher

* Vor der Einführung des Farbstoffs in die Pleurahöhle müssen die Haut und die Muskeln, mit Ausnahme der Intercostalmuskeln, bei Einführung in den Bauchraum die Haut allein abpräparirt werden.

Vergrösserung untersucht. Nach 5—10—15 Minuten ist bereits in der Regel eine vollständige Färbung der Nervenverzweigungen in der Haut, in den Bauch- oder Extremitätenmuskeln des Thieres vorhanden. Die Injektion von Methylenblaulösungen in das, das zu untersuchende Organ umgebende Bindegewebe wird verhältnissmässig selten angewandt, und zwar in dem Fall, wenn die anderen Verfahren keine befriedigenden Resultate ergeben. In meinem Laboratorium wurde das erwähnte Verfahren für die Nervenfärbung in den Speicheldrüsen (Gl. submaxillaris), in den Ovarien (Markowitin) und den Augenmuskeln angewandt. Das Thier wird zu dem Zweck chloroformirt oder durch Entbluten getödtet und demselben in das, das betreffende Organ umgebende Bindegewebe an einer oder mehreren Stellen eine geringe Menge Methylenblaulösung von der angegebenen Stärke eingeführt; nach 20 bis 30 Minuten, nicht selten auch nach 1—2 Stunden wird das Organ herausgeschnitten und fixirt.

Vor nicht langer Zeit wandte Semi Meyer die subkutane Injektion von Methylenblaulösungen zwecks Färbung der Nervenelemente in dem Centralnervensystem an. Er injicirte dem Thiere in gewissen Zeiträumen eine bestimmte Menge einer 1%igen Farbstofflösung, bis der Tod desselben erfolgte. Die hierbei zur Färbung der Elemente des Centralnervensystems erforderliche Farbstoffmenge ist je nach der Grösse des Thieres verschieden: für eine junge Ratte genügen 5 Ccm.; für ein mehrwöchentliches Kaninchen 40 Ccm., für eine erwachsene Katze ist eine dreimal grössere Menge erforderlich als für ein junges Kaninchen welchem Meyer zunächst 20 Ccm. und nach 2 Stunden eine gleiche Farbstoffmenge einführte, worauf nach weiteren 2 Stunden gewöhnlich die Agonie und der Tod des Thieres erfolgte. Die sofort herausgeschnittenen Gehirnstücke werden nach Bethe's Verfahren fixirt (cf. Fixirung). S. Meyer gelang es, vermittels dieses Verfahrens die Purkinje'schen Zellen und die Pyramidenzellen der Grosshirnrinde sowie die Ganglienzellen in der Medulla oblongata u. s. w. zu färben. Die von Ramon-y-Cajal und mir angestellten Nachuntersuchungen des Meyer'schen Verfahrens ergaben jedoch schlechte Resultate: Die Zellen färben sich schwach; die Verzweigungen ihrer Fortsätze sind nur auf kurze Strecken hin zu verfolgen.

d) Unmittelbare Färbung des herausgeschnittenen Organs oder eines Theils desselben mit $^1/_4$-, $^1/_6$- und $^1/_8$%iger Methylenblaulösung. Es wird je nach der Grösse des Thieres entweder das ganze, zur Untersuchung bestimmte Organ oder Stücke desselben von 1, 2, $2^1/_2$, ja sogar 3—4 Ccm. Grösse herausgeschnitten und auf den mit einer dünnen Schicht Glaswolle bedeckten Boden einer Glasschale gebracht. Das betreffende Organ muss möglichst blutleer und nicht mit Blut befleckt sein. Nachdem die Oberfläche desselben mit einer geringen Menge einer $^1/_4$-, $^1/_6$- oder $^1/_8$%igen Methylenblaulösung benetzt worden ist, wird die nicht fest zugedeckte Schale in dem Thermostaten bei einer Temperatur von 36—37° C aufgestellt; von Zeit zu Zeit ist die Oberfläche des Präparates mit einer $^1/_{16}$%igen Farbstofflösung anzufeuchten; nach Verlauf von 1—2, maximum $2^1/_2$ Stunden wird das Präparat fixirt. Genügend dünne Präparate müssen in gewissen Zeiträumen unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrösserung betrachtet werden, um sie bei hinreichender Nervenfärbung sofort zu fixiren. Bei Kaltblütern erfolgt die Färbung bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Bei diesem Verfahren geht die Färbung gewöhnlich von der nach oben gerichteten Fläche des Organstückes aus; der Farbstoff dringt dabei bald mehr, bald weniger tief ein. Ein eventuell vorhandener Ueberschuss der Farbstofflösung in der Schale muss abgegossen werden. Vermittels dieses Verfahrens wird eine recht vollständige Nervenfärbung in fast sämmtlichen Organen mit Ausnahme einiger weniger, wie Nieren, Lymphknoten, Milz und einigen anderen, erzielt.

Für die Nervenfärbung in derben Geweben (in der Haut, in der Haut des harten Gaumens von Wasservögeln u. a.) kann das angegebene Verfahren folgendermassen abgeändert werden: von dem betreffenden Organe werden vermittels eines scharfen Rasirmessers möglichst feine Schnitte angefertigt (das Präparat wird zu dem Zweck in Hollundermark oder Leber eingeschlossen) und sofort auf breite, vorher mit einigen Tropfen einer schwachen ($^1/_6$—$^1/_8$%igen) Methylenblaulösung befeuchteten (die Schnitte dürfen nicht

in der Lösung schwimmen) Objektgläser übertragen, alsdann auf denselben in dem Thermostaten bei einer Temperatur von 36—37° C aufgestellt und mit einem Uhrglas bedeckt. Die Nervenfärbung verläuft in diesem Fall schnell — im Verlauf von 10—15—30 Minuten. Im Fall einer Eintrocknung der Lösung muss das Objektglas von neuem befeuchtet werden; noch bequemer ist es, die Objektgläser in eine grosse Petrischale, in welche ein mit Methylenblaulösung oder einfach mit Wasser angefeuchteter Wattebausch hineingethan ist, einzulegen und dieselbe zugedeckt in den Thermostaten aufzustellen. Die Methylenblautropfen, in welchen die Präparate liegen, verdunsten unter diesen Umständen bedeutend langsamer, infolgedessen ein Zuträufeln der Lösung seltener erforderlich ist. Die Präparate müssen von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrösserung geprüft und, sobald die Nerven hinreichend gefärbt erscheinen, fixirt werden. Die Färbung der Nervenelemente in einer dermassen dünnen Membran, wie die Netzhaut, erfordert besondere Vorsichtsmassregeln. Das Auge des Menschen oder Warmblüters wird zu dem Zweck enukleirt, sorgfältig von dem umgebenden Bindegewebe gereinigt und darauf mit einem scharfen Rasirmesser ungefähr 1 Mm. hinter der Uebergangsstelle der Hornhaut in die Sklera durchschnitten; das hintere Segment wird alsdann parallel dem Aequator des Augapfels oder den Meridianen desselben entsprechend in mehrere, 2—3—4 Stücke je nach der Grösse des Auges zertheilt; darauf muss von jedem Stück vermittels feiner Pincetten die Retina mit dem ihr anhaftenden Glaskörperrest vorsichtig abgehoben werden, wobei das Pigmentepithel auf der Gefässhaut zurückbleibt. Die Retinastückchen werden sofort, mit der äusseren Fläche nach oben, auf breite Objektträger gebracht und deren Oberfläche oder aber der Objektträger am Rande des Präparats mit einigen Tropfen einer $^1/_6$—$^1/_8$%igen Methylenblaulösung benetzt. Nach 5 Minuten wird jedes Stück auf ein reines Objektglas, doch diesesmal mit der Nervenfaserschicht nach oben, übertragen, der Glaskörper theilweise vorsichtig mit einer Schere entfernt und dasselbe, oder der Objektträger am Rande des Präparats mit 2—3 Tropfen einer Methylenblaulösung angefeuchtet. Die Objektgläser werden alsdann in einer flachen Schale (s. oben) angeordnet und in derselben in einem Thermostaten aufgestellt; von Zeit zu Zeit muss die Färbung der Nervenelemente unter dem Mikroskop kontrolirt werden; nach 30—40 Minuten hat die Färbung gewöhnlich den Höhepunkt erreicht, worauf die Präparate entweder direkt auf dem Objektglase fixirt oder aber von letzterem abgehoben und in die Fixirungsflüssigkeit gebracht werden. Bei kleinen Warmblütern nimmt man am besten die ganze Netzhaut auf einmal heraus, ebenso wie bei kleinen Kaltblütern (Frosch), bei denen jedoch die Färbung bei Zimmertemperatur vor sich geht.

Ausser den bisher angeführten Färbungsverfahren wenden einige Forscher noch folgende an:

e) Färbung mit Methylenblau in Substanz. Dieses Verfahrens bediente sich Ramon-y-Cajal zur Färbung der Elemente des Centralnervensystems (vorwiegend des Grosshirns); er nennt das Verfahren »Diffusionsfärbung« und verfährt dabei folgendermassen: in das freigelegte Gehirn eines Thieres, z. B. Kaninchens, wird eine Reihe paralleler Einschnitte durch die Rinde gemacht (die Einschnitte müssen in einer Entfernung von 2—3 Mm. von einander angelegt sein). In die durch vorsichtiges Abheben der Gehirnstücke erweiterten Einschnitte wird darauf vermittels eines Pinsels Methylenblaupulver eingestreut, die Stücke alsdann wieder zusammengelegt und die Schädeldecke zugedeckt. Nach $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden nimmt Cajal die Gehirnstücke vorsichtig heraus, spült dieselben in physiologischer Kochsalzlösung ab und fixirt sie. Auf dieselbe Weise können auch andere Objekte, z. B. die Netzhaut, gefärbt werden. Bisweilen feuchtet R.-y-Cajal die Schnittfläche

auch mit einer gesättigten Methylenblaulösung an, statt sie mit dem Farbstoffpulver zu bestreuen.

f) Färbung in einer Methylenblaulösung. Apáthy, Nieman, A. E. Loweland u. a. Forscher färben die Nerven, indem sie die Präparate in Methylenblaulösungen verschiedener Koncentrationen eintauchen. Apáthy hat seine Untersuchungen vorwiegend an Wirbellosen (Hirudo, Pontobdella, Clepsine bioculata, Lumbricus, Unio u. a.) angestellt, welche er in Farbstofflösungen von $^1/_{100}$, $^1/_{10}$ und 1 pro Mille einlegte, wobei die Färbung um so schneller eintrat, je stärker die Lösungen waren, und zwar in der ersten Lösung annähernd nach 3—12, in der zweiten nach 1—$1^1/_2$ Stunden und in der dritten bereits nach 10 Minuten. Nach den Beobachtungen Apáthy's werden die Primitivfibrillen der Nervenfasern bei Säugethieren am besten nach Einwirkung einer schwachen Lösung ($^1/_{100}$ pro Mille) im Verlauf von 10—12 Stunden gefärbt. Apáthy nimmt an, dass das Methylenblau die Nerven nicht imprägnirt, sondern blos färbt, zu welchem Zweck das betreffende Gewebe blos frisch zu sein braucht, während der Sauerstoff dabei keine Rolle spielt. J. Niemack setzte zu 5 Ccm. einer physiologischen Kochsalzlösung einen Tropfen einer gesättigten Methylenblaulösung (6,0 : 150,0 aq. dest.) zu und färbte damit die Maculae und Cristae acusticae von Amphibien und Säugethieren; die Färbung erfolgte bereits nach Verlauf von $^3/_4$ Stunden; auf dieselbe Weise färbte er auch die Nervenelemente der Netzhaut, der Hornhaut u. dergl. von Säugethieren. Die betreffenden Organe müssen dem frisch getödteten Thier entnommen sein; während der Färbung ist für freien Zutritt des Sauerstoffs zu denselben zu sorgen; zu dem Zwecke brachte Niemack die Präparate in kurze Reagenzgläser, die bis zur Hälfte mit der Farbstofflösung von der angegebenen Stärke gefüllt waren, und schüttelte dieselben vorsichtig bis zur Schaumbildung, so dass das Präparat allseitig von Schaum umgeben war. Loweland benutzte eine Methylenblaulösung von 1 : 1000 in physiologischer Kochsalzlösung, in welche er lebensfrische Gewebsstücke einlegte; die Nerven färbten sich bereits nach 15 bis 30 Minuten. Die Anwendung schwächerer (1 : 1200) oder stärkerer (1 : 300, 1 : 500) Lösungen ergab weniger befriedigende Resultate. Bethe brachte Ctenophoren (Cydippen) zwecks Färbung der Nerven des subepithelialen Geflechts in ein Gefäss mit Seewasser, welches Methylenblau im Verhältniss von 1 : 4000 enthielt; die Nervenfärbung erfolgte bereits nach 1—2 Stunden. T. Freidenfeld färbte das Nervensystem von Maitra elliptica Brown mit einer Lösung von Methylenblau in destillirtem Wasser, welche er dem Seewasser solange zusetzte, bis dasselbe eine dunkelblaue Farbe annahm. Die Nervenfärbung trat gewöhnlich nach einigen oder mehreren Stunden ein, wobei behufs Vermeidung des Schwundes der Nervenfärbung die Luft Zutritt zu den Präparaten haben musste. G. Retzius färbte das periphere Nervensystem am lebenden Amphioxus: zu dem Zweck fügte er dem Seewasser, in welchem sich die Thiere befanden, zunächst soviel Methylenblau zu, dass dasselbe hellblau wurde, alsdann verstärkte er die Lösung, bis dass sie eine dunkelblaue Farbe annahm, und brachte die Schalen in den Eisschrank. Die Thiere lebten in diesem Wasser 2 Wochen, wobei im Verlauf dieser Zeit, bei der Untersuchung der Thiere unter dem Mikroskop, der allmähliche Eintritt der Färbung verfolgt werden konnte. Ich selber färbte das Nervensystem des Amphioxus, indem ich dem Seewasser Methylenblau in Substanz bis zu einer dunkelblauen Färbung zusetzte, darauf ich die Lösung filtrirte, um die sich dabei bildenden nadelförmigen dunkelblauen Krystalle zu entfernen. In das filtrirte Wasser wurden alsdann die Thiere gebracht. Nach 1—$1^1/_2$ Stunden legte ich die Thiere auf breite Objektträger und beobachtete sie von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop. Die Nervenfärbung erfolgte gewöhnlich 10—30 Minuten nach Uebertragung der Thiere auf das Objekt-

glas; um das Eintrocknen der Oberfläche der Thiere zu verhüten, wurden dieselben von Zeit zu Zeit mit dem gefärbten Seewasser, in dem sich die Thiere anfänglich befanden, befeuchtet. Nach genügender Färbung wurden die Thiere in die Fixirungsflüssigkeit übergeführt.

Soviel ich auf Grund meiner Beobachtungen beurtheilen kann, eignet sich dieses Verfahren der Nervenfärbung für niedere Wirbelthiere und wirbellose Thiere, welche in Süss- oder Seewasser leben. Bei höheren Wirbelthieren giebt dieses Verfahren bedeutend schlechtere Resultate als sämmtliche andere Färbungsmethoden; ausserdem werden hierbei die Nervenzellenfortsätze stark varikös.

Von sämmtlichen angeführten Färbungsverfahren der Nerven mit Methylenblau müssen für die besten die unmittelbare Einwirkung von schwachen Farbstofflösungen auf die ausgeschnittenen Organe und die Injektion der Blutgefässe des Thieres mit $^1/_2$—$^1/_4$ $^0/_0$igen Lösungen erachtet werden. Es muss jedoch erwähnt werden, dass bei Anwendung des einen oder des anderen Verfahrens nicht immer auf eine gute Färbung der Nervenelemente gerechnet werden kann. Gewöhnlich muss in jedem einzelnen Fall das eine oder das andere Verfahren geändert werden: entweder muss die Lösung schwächer oder stärker sein, oder sie muss längere oder kürzere Zeit einwirken u. s. w. Alle derartigen Einzelheiten, von denen häufig der Erfolg der Färbung abhängt, lassen sich nicht beschreiben und können erst nach längerer Praxis erkannt werden.

II. Fixirung des Methylenblaus.

Die mit Methylenblau gefärbten Elemente verlieren, wie bekannt, allmählich die Farbe und blassen nach kurzer Zeit vollständig ab. Infolgedessen mussten in der ersten Zeit nach Einführung des Ehrlich'schen Verfahrens in die histologische Technik die frischen Präparate, ohne vorherige Härtung und Fixirung möglichst schnell der mikroskopischen Untersuchung unterzogen werden, da sonst Gefahr gelaufen wurde, dass die Färbung schwindet. Die mit derartigen Untersuchungen verknüpften Unbequemlichkeiten veranlassten natürlich die Forscher, ein Mittel zu suchen, welches diese Schwierigkeiten beseitigen und die einmal erhaltene Färbung fixiren könnte. Die Mehrzahl der gewöhnlichen, zur Fixirung der Gewebe benutzten Reagentien, wie Alkohol, gewisse Säuren u. dergl., erwiesen sich zu dem Zweck als untauglich, da in ihnen die Färbung schwindet. Arnstein wandte zuerst als Fixirungsmittel eine 1$^0/_0$ige Lösung von Jodkalium, der Jod bis zur Sättigung zugefügt war, an. In dieser Lösung liess er die Organ- oder Gewebsstücke 6—12 Stunden liegen, wusch sie darauf in destillirtem Wasser aus und untersuchte sie in Glycerin. Bei diesem Fixirungsverfahren nahmen die Nervenelemente eine dunkelbraune, sich scharf abhebende Färbung an. Späterhin änderte Arnstein dieses Verfahren dahin, dass er die Blutgefässe des Thieres, an welchem die Nerven gefärbt waren, mit der Jodlösung ausspülte, darauf Stücke des zu untersuchendon Gewebes ausschnitt und dieselben von neuem in die Jodlösung überführte. Ausserdem fixirte Arnstein die mit Methylenblau gefärbten Präparate in einer Lösung von Jodquecksilber (3 Theile auf 30 Theile Aq. dest. und 2 Theile Jodkalium), in welcher die Präparate 2 Stunden verbliebon. Beide angeführten Verfahren erwiesen sich jedoch als wenig ausreichend, da die braunrothe Farbe dor Nerven allmählich im Glycerin abblasste und schliesslich vollkommen schwand. Bald darauf wandte Pal zur Fixirung des Methylenblaus eine 2$^0/_0$ige Jodkalilösung in Glycerin an, in welche er kleine Gewebsstücke einlegte. Allein auch dieses Verfahren erwies sich als ungeeignet, da Jodkalium mit Methylenblau nadelförmige violette Krystalle bildet, welcho die Untersuchung hindern und sich ausserdem bald auflösen, so dass die Nerven entfärbt werden.

In Anbetracht der Unzulänglichkeit aller erwähnten Fixirungsmethoden unternahm SMIRNOW, auf den Vorschlag von Prof. ARNSTEIN hin, die weitere Ausarbeitung des Fixirungsverfahrens. In kurzem nahm er wahr, dass das Pikrokarmin von HOYER ein gutes Fixirungsmittel für mit Methylenblau gefärbte Nervenelemente darstellt; nach Einwirkung des Pikrokarmins erhalten dieselben eine dunkel-violette Farbe. In das Pikrokarmin wurden kleine, dünne (nicht dicker als 2—3 Mm.) Gewebsstücke eingelegt und nach einigen Stunden und sogar Tagen in angesäuertem Glycerin eingeschlossen. Dieses Verfahren eignet sich vorwiegend für die Fixirung solcher Gewebe und Organe, die wenig Bindegewebe enthalten. Gleichzeitig mit der Fixirung des Methylenblaus wird hierbei auch eine Färbung der Zellkerne erzielt. Diese Fixirung ist besonders in den Fällen, in welchen Nervenzellen und -Fasern oder irgendwelche Nervenendapparate, wie Geschmacksknospen, isolirt werden müssen, angebracht, für die Fixirung der Nervenelemente in Organ- oder Gewebsstücken jedoch fast nicht anwendbar, da das Pikrokarmin ausserdem die Bindegewebsfibrillenbündel färbt, so dass die Untersuchung der Nerven in bindegewebsreichen Organen durchaus erschwert wird.

Bald darauf fand ich, dass eine gesättigte wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammonium ein ausgezeichnetes Fixirungsmittel abgiebt; dasselbe bildet mit dem Methylenblau einen dunkelvioletten Niederschlag, infolge dessen die Nerven statt einer blauen eine mehr oder weniger intensive violette Färbung erhalten; der Niederschlag ist leicht in Wasser oder Alkohol, schwerer in Glycerin löslich, verändert sich jedoch fast gar nicht in einem Gemisch von Glycerin mit einer gesättigten wässerigen Lösung von Ammoniumpikrat; die letztere dringt ausserdem leicht in die Gewebe ein und lockert dieselben auf, infolgedessen in der Lösung von pikrinsaurem Ammonium auch grössere Organstücke fixirt werden können. Schliesslich können die in dieser Lösung fixirten Präparate mit Pikrokarmin gefärbt werden, wenn eine Darstellung der Zellkerne erforderlich sein sollte. Die Mängel dieses Verfahrens bestehen darin, dass die Organe bei der Fixirung mehr oder weniger aufgelockert und nicht gehärtet werden, folglich von ihnen auch keine Schnitte angefertigt werden können, dieselben somit nur für das Studium in toto tauglich sind. Dieser wesentliche Mangel der von mir vorgeschlagenen Methode veranlasste mich und andere Forscher, eine Verbesserung derselben anzustreben, sowie andere Reagentien zu suchen, welche imstande wären, nicht nur das Methylenblau zu fixiren, sondern auch die Präparate zu härten. Behufs Beseitigung des ersteren Uebelstandes — der übermässigen Auflockerung der Gewebe — fügte ich der Lösung von Ammoniumpikrat Osmiumsäure (auf 100 Ccm. 1—2 Ccm. einer $1^0/_0$igen Osmiumsäurelösung) zu; zwecks Fixirung des Methylenblaus und gleichzeitiger Härtung der Gewebe legte ich die letzteren für kurze Zeit in $90^0/_0$igen mit Ammoniumpikrat gesättigten Alkohol ein. Letzteres Verfahren gab jedoch recht schlechte Resultate, da die Nervenfärbung in der alkoholischen Lösung des pikrinsauren Ammoniums sehr schnell nach 1 bis 2 Stunden verschwand. Nach MAYER's Angaben ist die Fixirung des Methylenblaus eine bessere, wenn die Präparate in ein Gemisch von Glycerin mit kaltgesättigter Lösung von pikrinsaurem Ammonium (zu gleichen Theilen) eingelegt werden. RETZIUS schlägt die Anwendung desselben Gemisches vor. M. LAWDOWSKY räth, die Nerven in einer Lösung von Jod in Amnionflüssigkeit, d. h. in einem starken Jodserum zu fixiren, zur Härtung und gleichzeitiger Fixirung der Nerven jedoch eine gesättigte Pikrinsäurelösung zu verwenden; letztere giebt mit Methylenblau einen zarten violetten Niederschlag und ist, nach der Meinung von LAWDOWSKY, das fixirende Moment im HOYER'schen Pikrokarmin. PLOSCHKO schlägt für die Härtung der in Ammoniumpikrat fixirten Präparate die Anwendung einer $5^0/_0$igen, aus der

käuflichen 40%igen dargestellte »Formalinlösung« vor. In dieser Lösung müssen die Präparate je nach ihrer Grösse 6 Stunden bis 2 Tage verbleiben, worauf sie in Hollundermark eingeschlossen und geschnitten werden können; die Schnitte werden in Glycerin betrachtet. Nach der Ansicht von PLOSCHKO bewirkt das Formol keine wesentlichen Veränderungen in der Färbung der Nerven, die violette Färbung erscheint blos etwas blasser.

Alle genannten und ähnliche für die Fixirung des Methylenblaus und gleichzeitige Härtung der Organe vorgeschlagenen Verfahren haben jedoch das gewünschte Ziel nicht erreicht, da die Härtungsflüssigkeiten die gefärbten Nerven gewöhnlich schlecht fixiren. Im Jahre 1895 erst fand A. BETHE ein Fixirungsverfahren des Methylenblaus, welches die Möglichkeit gab, die Farbe der Nervenelemente zu erhalten und das Präparat nach einer Härtung in Alkohol in Schnitte zu zerlegen.

Die von mir und BETHE vorgeschlagenen Fixirungsverfahren sind zur Zeit die besten, sie ergänzen sich gegenseitig und gestatten eine ausgiebige Anwendung der Methylenblaufärbung zum Studium der Nerven. In Anbetracht dessen gebe ich eine ausführliche Darstellung der genannten Verfahren.

a) Fixirung mit pikrinsaurem Ammonium. Für die Fixirung wird eine bei Zimmertemperatur gesättigte wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammonium benutzt; am besten ist das in Form grosser oder kleiner nadelförmiger Krystalle in den Handel kommende Salz von helloranger Farbe anzuwenden; dasselbe kann von G. GRÜBLER in Leipzig bezogen werden. Zweckmässig ist es, etwa 200—300 Ccm. der Lösung vorräthig zu halten, welcher jedoch einige Kampherstücke zur Verhütung der Pilzbildung zuzusetzen sind.

Die gefärbten Präparate werden, sobald nur die Nerven intensiv genug tingirt sind, in eine Glasschale oder ein Glasgefäss mit 30—50—100 Ccm. (je nach der Grösse, Dicke und Menge der Präparate) der erwähnten Ammoniumpikratlösung eingelegt und darin 2—6—12, ja bis 12—24 Stunden liegen gelassen. Für dünne Häute, Schnitte u. s. w. genügt ein Aufenthalt von 2—3 Stunden in pikrinsaurem Ammonium, dicke, grosse Organstücke müssen 6—12—18—24 Stunden in der Lösung verbleiben; ein längeres Verweilen der Präparate in der Lösung, z. B. 48 Stunden, hat jedoch einen schädigenden Einfluss auf dieselben. Wird die Fixirungsflüssigkeit bald nach der Uebertragung der Präparate in dieselbe trübe (infolge einer Ablösung von Epithelzellen von der Oberfläche, oder infolge reichlicher Schleimmengen auf den Präparaten, oder aus anderen Gründen), so muss sie solange gewechselt werden, bis sie vollkommen klar bleibt. Aus dem pikrinsauren Ammonium werden die Präparate auf Objektgläser in ein Gemisch von Glycerin und der Fixirungsflüssigkeit (zu gleichen Theilen) übertragen und mit Deckgläsern zugedeckt. In der genannten Mischung werden dünne Präparate bereits nach einem Tage vollkommen durchsichtig und für die mikroskopische Untersuchung tauglich; zum Aufhellen dieser Präparate sind jedoch 2—4 Tage erforderlich.

Ist das zu untersuchende Präparat dermassen dick, dass es nicht mit einem Deckglas zugedeckt werden kann, so verfahre ich je nach dem Präparat in verschiedener Weise: entweder ich zerzupfe das Präparat vermittelst Nadeln in kleine Stücke, wie z. B. Nerven, Muskeln u. dergl., oder zertheile dasselbe vermittels Pincetten in Lamellen oder einzelne Schichten, wenn die zu untersuchenden Organe, wie z. B. Gefässe u. dgl., einen schichtenförmigen Bau haben, oder ich schneide vorsichtig mit einer Schere die überflüssigen Theile von derjenigen Fläche des Präparats ab, welche während der Färbung nach unten gerichtet war (bei der Färbung nach dem Verfahren *d)*), bis dasselbe genügend dünn ist, oder aber ich drücke das

Deckglas vorsichtig an und flache dadurch das unter ihm gelegene Präparat ab, bisweilen lege ich auch auf das Deckglas für mehrere Tage ein kleines Gewicht auf. Die auf diese Weise fixirten Präparate können sich im Verlauf mehrerer Jahre fast ohne Veränderungen erhalten, wenn nur das austrocknende Glycerin allmählich durch neues ersetzt, oder das Deckglas mit einem Kitt umgeben wird.

In dem zum Einschluss des Präparats benutzten Gemisch bilden sich bisweilen Krystalle von pikrinsaurem Ammonium und hindern die Beobachtung; dieselben verschwinden jedoch in kurzer Zeit, wenn an den Rand des Deckglases ein Tropfen reinen Glycerins gebracht und unter das Deckglas geleitet wird. Die Netzhautpräparate müssen auf denselben Objektträgern fixirt werden, auf denen sie gefärbt worden sind. Zu dem Zweck werden auf die Oberfläche des Präparates einige Tropfen Ammoniumpikrats geträufelt und dasselbe alsdann unter eine reine Glasglocke gebracht, mit sammt einem kleinen mit Wasser getränkten Wattebausch. Nach 8—10 Stunden wird das pikrinsaure Ammonium vermittelst Fliesspapiers aufgesogen und durch ein Gemisch von Glycerin und Ammoniumpikratlösung ersetzt, sowie von der Oberfläche der Netzhaut vorsichtig die ihr anhaftenden Glaskörperreste vermittelst feiner Pincetten entfernt. Alsdann werden die Präparate mit Deckgläsern zugedeckt; letztere können auch auf kleine Kartonstreifen gelegt werden, damit sie nicht zu sehr aufs Präparat drücken.

Kleine Organstücke, dünne Häute, Gewebe, die zerzupft werden sollen, u. a. können in dem oben angegebenen Gemisch von pikrinsaurem Ammonium mit Osmiumsäure (100 Ccm. der Ammoniumpikratlösung und 1 bis 2 Ccm. einer 2%igen Osmiumsäurelösung) fixirt und nachher in Pikrokarmin gefärbt werden. Dünne Häute und feine für Zupfpräparate bestimmte Gewebsstücke können auch unmittelbar in Hoyer'schem Pikrokarmin fixirt werden. Alle in einer Lösung von pikrinsaurem Ammonium fixirten Präparate können, bevor sie auf Objektträger in ein Gemisch von Glycerin mit pikrinsaurem Ammoniak gebracht werden, einige Tage in einer Schale mit derselben Mischung liegen.

b) Fixirung mit molybdänsaurem Ammonium nach Bethe. Bei seinen Studien über das Verhalten verschiedener Substanzen zum Methylenblau lenkte Bethe seine besondere Aufmerksamkeit dem Ferricyankalium und dem molybdänsauren Ammonium zu, welche eine vollständige Fällung des Methylenblaus in wässeriger Lösung herbeiführen, und zwar in Form von ferricyansaurem respektive molybdänsaurem Methylenblau. Die aus dem Methylenblau erhaltene Leukobase wird durch molybdänsaures Ammonium als weisses, sich allmählich bläuendes Salz gefällt. Um nun bei dieser Fixirung eine gute Färbung der Nerven zu erzielen, muss der Fixirflüssigkeit eine oxydirende Wirkung gegeben werden, was nach den Beobachtungen Bethe's durch Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd erreicht wird. Ausserdem hält Bethe es für nothwendig, nicht das käufliche Ammoniummolybdat — $(NH_4)_6 Mo_7 O_{24}$ —, sondern ein saures Salz anzuwenden, welches leicht durch Zusatz von Salz- oder Salpetersäure zur Lösung des gewöhnlichen, käuflichen Salzes erhalten wird, wobei sich zunächst freie Molybdänsäure abspaltet, die sich dann mit dem Rest des Ammoniummolybdats zu sauren Salzen verbindet. Das Methylenblaumolybdat ist in Wasser sogar beim Kochen unlöslich, desgleichen in Aether, Xylol und Nelkenöl; in Alkohol von Zimmertemperatur ist es schwer löslich, dagegen leicht löslich in kochendem Alkohol. In verdünntem Ammoniak löst es sich auch beim Erwärmen schwer, desgleichen in verdünnter Natronlauge in der Kälte. Starke Mineralsäuren spalten das Salz in der Kälte langsam, schneller beim Erwärmen; Chromsäure oder chromsaure Salze verändern es nicht. Essigsäure löst das Methylenblaumolybdat bei längerem Stehen oder beim Erwärmen; Ueberosmiumsäure giebt bei Gegenwart von überschüssigem Ammoniummolybdat mit dem Methylenblaumolybdat eine Verbindung, dessen Farbe viel dunkler blau ist als die des pentamolybdänsauren Methylenblaus und welche sich in Alkohol selbst nach längerem Stehen nicht auflöst.

Für die Methylenblaufixation bei Wirbelthieren empfiehlt BETHE folgendes Gemisch: Ammoniummolybdat 1 Grm., Aqua destillata 10 Ccm., Wasserstoffsuperoxyd 1 Ccm., Acid. hydrochloric. offic. 1 Tropfen.

Beim Zusatz der Salzsäure zum Gemisch entsteht ein weisser Niederschlag (Molybdänsäure), der sich beim Schütteln löst. Das genannte Gemisch empfiehlt BETHE für die Methylenblaufixation bei Wirbelthieren deswegen, weil bei diesen »häufig eine Verbindung des Methylenblaus an den Axencylindern der Nerven, wahrscheinlich mit einer organischen Säure entsteht. Diese Verbindung wird durch das käufliche Ammoniummolybdat nicht gespalten, wohl aber durch saure Salze, wie sie beim Zusatz von Salzsäure oder Salpetersäure entstehen«.

Für die Methylenblaufixation bei wirbellosen Thieren eignet sich nach BETHE am besten folgendes Gemisch: Ammoniummolybdat 1 Grm., Aqua destillata 10 Ccm., Wasserstoffsuperoxyd $^1/_2$ Ccm.

Die Lösung ist am besten frisch zu bereiten, da sie sich nicht länger als 8 Tage hält, ohne Niederschläge zu geben.

Die gefärbten Präparate werden sofort in eines der erwähnten Gemische gebracht, welches auf $+2^0$ bis -2^0 abgekühlt wird; kleine Gewebsstücke bleiben in dem Gemisch 2—3 Stunden, grössere bis zur Ausdehnung von 1 Ccm. 4—5 Stunden. Nach Ablauf dieser Zeit lässt man die Präparate noch einige Zeit bei Zimmertemperatur im Gemisch; alsdann wäscht man sie $^1/_2$—2 Stunden in destillirtem Wasser aus, um das Ammoniummolybdat zu entfernen, und entwässert in Alkohol. In letzterem dürfen die Präparate nicht lange verbleiben, obgleich grössere Stücke, ohne dass die Färbung Schaden erleidet, 12—24 Stunden in demselben liegen gelassen werden können. Die entwässerten Präparate werden in Nelkenöl oder besser noch in Xylol aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen; besonders sorgfältig ist aus den Präparaten der Alkohol zu entfernen, wenn dieselben zum Einbetten in Paraffin bestimmt sind, da das Methylenblaumolybdat in warmem Alkohol löslich ist. Die ganzen Stücke oder die Schnitte können am besten mit Alaunkarmin oder Alauncochenille nachgefärbt werden, eine Nachfärbung mit Boraxkarmin oder Ammoniakkarmin ist ausgeschlossen, da Mineralsäuren und Alkalien das Methylenblaumolybdat spalten. Eine Nachbehandlung der fixirten Präparate mit Chromsäure, Kaliumbichromat und mit Pikrinsäure verändert die Färbung der Nerven nicht. Sollen die fixirten Präparate mit Osmiumsäure nachbehandelt werden, so wird diese der Fixirungsflüssigkeit, in der das Präparat bereits einige Zeit gelegen hat, zugesetzt. Bei der Fixirung des nach BETHE's Verfahren mit Methylenblau gefärbten Gehirns fand S. MEYER, dass der Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd zum Fixirungsgemisch überflüssig, ja sogar schädlich sei, da es infolge seiner stark oxydirenden Eigenschaft eine leichte Entfärbung der Präparate bewirkt. Bei seiner Erwiderung auf die Behauptung MEYER's giebt BETHE einige Vereinfachungen des von ihm vorgeschlagenen Fixirungsverfahrens an; der Hauptzweck dieser Vereinfachungen besteht darin, die Fixirung bei gewöhnlicher Zimmertemperatur vornehmen zu können. BETHE schlägt zu dem Zweck eine Kombination seines und meines Verfahrens vor: er bringt nämlich vorher die Präparate für 10—15 Minuten in eine gesättigte wässrige Lösung von pikrinsaurem Ammonium, bis sich ein violetter Niederschlag von Methylenblaupikrat gebildet hat, worauf das Präparat in eines der unten angegebenen, Ammoniummolybdat enthaltenden Gemische eingelegt wird, wobei sich das Methylenblaupikrat im Gemisch III, V und VI in phosphormolybdänsaures Salz umwandelt.

BETHE schlägt folgende neue Gemische für die Methylenblaufixirung vor:

I. Molybdänsaures Ammonium 1 Grm., Aqua destillata 10 Grm., Acid. hydrochloric. offic. 1 Tropfen.

II. Molybdänsaures Ammonium 1 Grm., Aqua destillata 10 Grm., $^{1}/_{2}$%ige Osmiumsäurelösung 10 Grm., Acid. hydrochloric. offic. 1 Tropfen.

III. Phosphormolybdänsaures Natron 1 Grm., Aqua destillata 10 Grm., 2%ige Chromsäurelösung 10 Grm., Acid. hydrochloric. offic. 1 Tropfen.

IV. Molybdänsaures Ammonium 1 Grm., Aqua destillata 10 Grm., 2%ige Chromsäurelösung 10 Grm., Acid. hydrochloric. 1 Tropfen.

V. Phosphormolybdänsaures Natron 1 Grm., Aqua destillata 20 Grm., Acid. hydrochloric. 1 Tropfen.

VI. Phosphormolybdänsaures Natron 1 Grm., Aqua destillata 10 Grm., $^{1}/_{2}$%ige Osmiumsäurelösung 10 Grm., Acid. hydrochloric. 1 Tropfen.

Die Gemische I, IV, sowie II und V wendet Bethe nur für dicke Objekte, welche in toto untersucht werden sollen, an, wie z. B. für das Gehirn und Bauchmark von Arthropoden. Die Mischung III und VI schlägt er für dünne Präparate oder solche, die späterhin in Schnitte zerlegt werden sollen, vor. Die Zeit des Verbleibs der Präparate in den Gemischen hängt von der Grösse der Objekte ab: Stücke von 2—3 Mm. Dicke bleiben in dem Gemisch I und IV 45—60 Minuten, in den Gemischen III und VI dagegen am besten 4—12 Stunden.

Ramon-y-Cajal fixirte Stücke des Centralnervensystems in dem Betheschen Gemisch (100 Ccm. einer 10%igen Ammoniummolybdatlösung und 10 Tropfen Salzsäure), ohne Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd, dessen Anwesenheit er für überflüssig hielt; darnach brachte er die Schnitte für 3 bis 4 Stunden in folgende Mischung: Formol 40 Ccm., destillirtes Wasser 60 Ccm.; 1% Platinchlorürlösung 5 Ccm.; letzteres soll die Unlöslichkeit der Molybdänverbindung mit Methylenblau verstärken. Nach Ablauf der angegebenen Zeit werden die Stückchen rasch in destillirtem Wasser ausgewaschen, darauf für einige Minuten in eine $^{1}/_{3}$%ige alkoholische Lösung von Platinchlorür übergeführt und in gewohnter Weise in Paraffin eingebettet. Die Schnitte werden zunächst in absoluten Alkohol mit Zusatz von 0,3% Platinchlorür eingelegt, darnach in Xylol oder Bergamottöl aufgehellt und schliesslich in Kanadabalsam eingeschlossen.

Ich wende das von Bethe vorgeschlagene Fixirungsverfahren des Methylenblaus seit seiner Einführung in die mikroskopische Technik, und zwar gegenwärtig nach einer Reihe von Versuchen in einer beträchtlich vereinfachten und bequemeren Form an. Aus der von Bethe anfänglich vorgeschlagenen Mischung habe ich zunächst das Wasserstoffsuperoxyd entfernt, welches weder schadet noch nützt; des weiteren füge ich der Mischung keine Salzsäure zu, da deren Anwesenheit keinen Einfluss auf die Methylenblaufärbung hat, während in dem angesäuerten Gemisch einige Gewebselemente, wie Nervenzellen, sich mehr oder weniger verändern; schliesslich kühle ich die Mischung nicht ab, wie es Bethe und andere Forscher thun. Ich benutze somit zur Fixirung eine einfache Lösung von molybdänsaurem Ammonium; das letztere beziehe ich von Grübler.

Nach meinen Erfahrungen im Verlauf bereits mehrerer Jahre verliert das molybdänsaure Ammonium durch die gemachten Veränderungen nichts an seiner Fixirungsfähigkeit, wogegen die Methode beträchtlich vereinfacht ist. Das gesammte Fixirungsverfahren verläuft folgendermassen: Es wird je nach der Zahl und Grösse der Präparate eine bestimmte Menge einer 5- bis 8%igen Lösung von Ammoniummolybdat bereitet; ist die Lösung trübe, so muss sie filtrirt werden. Die gefärbten Präparate werden sofort in die Lösung eingelegt; die Menge derselben, sowie die Aufenthaltszeit der Präparate in ihr sind durchaus von der Grösse der zu fixirenden Organe und Gewebe abhängig. Kleine Stücke, Schnitte, dünne Häute u. dergl. beanspruchen eine Menge von 20—30—50 Ccm. Ammoniummolybdatlösung, zur Fixirung

grösserer Stücke (von 2—8—10 Cm.) sind 100—200—300 Ccm. erforderlich. Im ersteren Fall werden die Präparate 10—40 Minuten bis 1 bis 2 Stunden bei gewöhnlicher Zimmertemperatur in der Lösung liegen gelassen, im zweiten Fall dagegen 10—12—24 Stunden. Ein längerer Verbleib der Präparate in der Lösung schadet der Färbung nicht. Alsdann werden die Präparate behufs Auswaschung in eine grosse Menge ($^1/_2$—1 Liter) destillirten Wassers übertragen, welche zweckmässig gewechselt wird, besonders wenn die auszuwaschenden Stücke gross sind. Kleine Gewebsstücke oder dünne Häute wasche ich gewöhnlich 30—40 Minuten lang aus, grössere Stücke im Verlauf mehrerer (2—3) Stunden. Aus dem Wasser übertrage ich die Präparate in absoluten Alkohol, worin sie möglichst kurze Zeit liegen gelassen werden, da die Farbe vom Alkohol dennoch extrahirt wird, besonders während eines längeren Aufenthalts im Verlauf von 12—24 und noch mehr Stunden der Präparate in demselben. Für Schnitte, dünne Häute und kleine Gewebsstücke genügt ein Aufenthalt im Alkohol während einiger (15—20) Minuten; grössere, dickere Präparate müssen in ihm $^1/_2$—1—2 und sogar 4—6 Stunden bleiben.

Präparate, welche in toto untersucht werden sollen, wie z. B. Muskeln, Sehnen, Fascien, Stücke der Magen-, Darm- oder Harnblasenwand u. dergl. sind am besten vor der Einlegung in Alkohol auf entsprechend grosse Kartonstücke auszuspannen, mit feinen Nadeln zu befestigen und in ausgespanntem Zustande in den Alkohol einzulegen. Nach genügender Erhärtung der Präparate, wenn keine Gefahr einer Schrumpfung mehr vorliegt, wird der Karton entfernt und dasselbe behufs endgiltiger Härtung in frischen Alkohol eingelegt.

Sollen die Präparate nicht in Schnitte zerlegt werden, so überträgt man sie zum Aufhellen in Xylol und schliesst sie darauf in Xyloldamarlack oder Kanadabalsam ein. Sollen Schnitte angefertigt werden, so bringe ich die Stücke aus dem Alkohol in dünnflüssiges Celloidin, worin sie je nach der Grösse $^1/_2$ bis 1—2—3 Stunden verbleiben, klebe sie alsdann auf Kork auf und lege sie zur Erhärtung des Celloidins in 70$^0/_0$igen Spiritus ein. Die in Celloidin eingebetteten Stücke werden auf dem Mikrotom in Schnitte zerlegt, diese alsdann entweder nach vorhergehender Färbung in Alaunkarmin oder aber ungefärbt in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt und in Xyloldamarlack eingeschlossen. Können die in Celloidin eingebetteten Stücke aus irgend welchem Grunde nicht sofort in Schnitte zerlegt werden, sollen sie für einige Tage aufbewahrt werden, so überträgt man dieselben aus dem 70$^0/_0$igen Alkohol in Wasser, in welchem sie unbeschadet für die Färbung 2—3 Tage verbleiben können (Markowitin). Das Einbetten der gefärbten Stücke in Paraffin vermeide ich gewöhnlich, da dasselbe sowie die Nachbehandlung der Schnitte mehr oder weniger ungünstig auf die Nervenfärbung einwirkt. Ist es jedoch durchaus erforderlich, diese Einbettung vorzunehmen, so verfährt man am besten nach der von Bethe angegebenen Weise.

Das von Bethe empfohlene kombinirte Fixirungsverfahren des Methylenblaus erweist sich besonders geeignet für wirbellose Thiere; ausserdem wende ich jedoch dasselbe zum Umfixiren von in Ammoniumpikrat bereits fixirten und in Glycerin eingeschlossenen Präparaten an, um dieselben für längere Zeit zu erhalten. Gewöhnlich werden derartige Präparate für einige Stunden oder für einen Tag in eine Lösung von molybdänsaurem Ammonium übergeführt, darauf ausgewaschen, in gewöhnlicher Weise entwässert, aufgehellt und eingeschlossen. Auf diese Weise habe ich häufig Präparate umfixirt, welche mehrere Jahre in einem Gemisch von Ammoniumpikratlösung und Glycerin gelegen hatten.

Sollen Epithelien oder Muskeln gut erhalten oder die Markscheide der Nervenfasern gefärbt werden, sowie für die Fixirung des Methylenblaus bei Wirbellosen setze ich der Lösung von molybdänsaurem Ammonium Osmiumsäure hinzu, und zwar auf 25 Ccm. einer 5- oder 8$^0/_0$igen Lösung von Ammoniummolybdat 2—3 Tropfen einer $^1/_2$$^0/_0$igen Osmiumsäurelösung. Diese

Mischung unterscheidet sich vom Gemisch II Bethe's durch die Abwesenheit von Salzsäure und einen geringeren Gehalt an Osmiumsäure. In derselben verbleiben die Präparate nicht lange (10—20 Minuten) bis zur leichten Bräunung, alsdann werden sie in gewöhnlicher Weise weiter behandelt (ausgewaschen, entwässert u. s. w.).

In letzter Zeit hat A. Leontowitsch für die Methylenblaufixirung beim Studium der Nervenendigungen in der Haut mehrere Gemische vorgeschlagen, welche nach seiner Meinung besonders gut die Merkel'schen Zellen, die Intercellularbrücken und die Remak'schen Fasern fixiren. Für die besten hält er ausser den Mischungen III und IV von Bethe folgende:

I. 5%ige wässrige Lösung von Ammon. molybdaenic. oder picro-molybdaen. 32,0, 1/3%ige wässrige Lösung von Aurokalium cyanatum 1,0, 1%ige wässrige Lösung von Platinum chloratum ($Pt Cl_4$) 2,0.

II. 10%ige wässrige Lösung von Ammon. molybdaenic. oder picro-molybdaen. 15,0, 1/4%ige wässrige Lösung von $Na_2 Pd Cl_4$ 15,0, 1%ige wässrige Lösung von $Pt Cl_4$ 2,0.

In beiden Gemischen kann das Ammonium molybdaenicum durch Natrium phosphormolybdaenicum ersetzt werden; in der zweiten Mischung ist das $Na_2 Pd Cl_4$ jedesmal extempore anzufertigen, da anderenfalls ein krystallinischer Niederschlag entsteht.

In die angegebenen Mischungen werden Hautstücke von 1 Mm. (für Mischung II) oder 2 Mm. Dicke für 3/4—1—2 Stunden eingelegt; in dem Natrium phosphor-molybdaenicum enthaltenden Gemisch müssen die Stücke die doppelte Zeit verbleiben. Die in Ammonium molybdaenicum fixirten Präparate werden in auf 0° abgekühltem Alkohol, diejenigen, welche in dem Natrium phosphor-molybdaenicum enthaltenden Gemisch fixirt sind, entweder desgleichen in abgekühltem Alkohol oder noch besser in Alkohol mit einem Zusatz von 1/3% $Pt Cl_4$ entwässert. Zwecks Anfertigung von Schnitten werden die Präparate in Paraffin eingebettet und auf dem Gefriermikrotom geschnitten. Ich habe die von Leontowitsch vorgeschlagenen Gemische geprüft, doch gaben sie dermassen unbefriedigende Resultate, dass ich die Anwendung derselben für eine Fixirung der mit Methylenblau gefärbten Hautnerven nicht empfehlen kann. Die Nervenfasern und ihre Endausbreitungen werden unter dem Einfluss dieser Gemische stark varicös, ihre Färbung blasst mehr oder weniger ab, infolge dessen sie weniger scharf hervortreten, während die Epithel- und Bindegewebszellen starke Veränderungen aufweisen (das Protoplasma erscheint vacuolisirt, die Kerne schrumpfen u. s. w.).

Die Frage nach der Haltbarkeit der Präparate, welche nach dem von mir vereinfachten Verfahren von Bethe, sowie nach dem kombinirten Verfahren fixirt sind, kann als entschieden angesehen werden. Ich bin im Besitz von Präparaten aus dem Jahre 1895, in denen die Nerven heute noch ebenso scharf gefärbt sind wie zur Zeit der Anfertigung derselben.

Die beiden beschriebenen Fixirungsverfahren des Methylenblaus ergänzen einander und geben die Möglichkeit, die Methylenblaufärbung in weitem Massstabe anzuwenden. Des ersteren Verfahrens bediene ich mich vorwiegend bei der Untersuchung dicker Präparate oder zwecks Klarlegung der Nervenausbreitung auf Flächenpräparaten oder zwecks Feststellung ihrer Beziehungen zu den umgebenden Geweben, sowie zum Studium der Nervenelemente in der Netzhaut. Das zweite Verfahren wende ich zur Fixirung von Flächenpräparaten (insbesondere dünner), von Schnitten und hauptsächlich von Präparaten, die in Schnitte zerlegt werden sollen, an.

III. Die Imprägnation der Gewebe mit Methylenblau. Das Methylenblau kann nicht nur zur Färbung der Nervenelemente, sondern auch zur Imprägnation der Gewebe zwecks Darstellung der Grenzen zwischen den Epithelzellen oder eines negativen Bildes der Saftlücken und -kanäle, der Lymphgefässe u. dergl. angewandt werden. Für die Färbung der Intercellularsubstanz zwischen den Epithelzellen genügt es, eine Schleimhaut oder eine seröse Membran, z. B. die Schleimhaut des Mundes, der Speiseröhre, des Darmes oder das Pericardium, das Bauchfell, für 10—20 Minuten in eine 1/2—1%ige Methylenblaulösung in physiologischer Kochsalzlösung einzulegen und die Präparate alsdann für 30—60 Minuten in eine Ammoniumpikrat- oder -molybdatlösung überzuführen. Im ersten Fall muss die betreffende Membran zunächst in einer Lösung des pikrinsauren Ammoniums ausgewaschen, alsdann in eine reine Lösung gebracht und nach Verlauf der angegebenen Zeit in ein Gemisch von Glycerin und Ammoniumpikratlösung

zu gleichen Theilen eingelegt werden. Im zweiten Fall müssen die Präparate in gewöhnlicher Weise bearbeitet, d. h. im Verlauf von 20—30 Minuten in destillirtem Wasser ausgewaschen, entwässert und in Xylol, Damarlack oder Kanadabalsam eingeschlossen werden.

Bei der Fixirung des Methylenblaus in einer Ammoniummolybdatlösung ist es zweckentsprechend, derselben eine geringe Menge, z. B. 2—3 Tropfen auf 30—50 Ccm. Lösung einer $^1/_2{}^0/_0$igen Osmiumsäurelösung, zuzufügen, da sonst beim Auswaschen des Präparats in Wasser sich das Epithel stellenweise von der Oberfläche ablöst.

Auf den dermassen behandelten Präparaten treten die Grenzen der Epithelzellen prachtvoll hervor, nicht selten sind auch gleichzeitig die Zellkerne gefärbt, so dass ein viel instruktiveres Bild erhalten wird, als bei der Imprägnation der Gewebe mit salpetersaurem Silber. Bisweilen gelingt es sogar, Intercellularbrücken wahrzunehmen, welche in Form feiner weisser Linien durch die gefärbte Intercellularsubstanz hindurchziehen.

Behufs Imprägnation der Saftlücken und -kanäle, der Lymphgefässe u. dergl. werden verschiedene dünne Häute, z. B. die Hornhaut, das Centrum tendineum des Diaphragmas, die fibröse Kapsel der Nieren u. a. in eine Methylenblaulösung von der angegebenen Koncentration für 20—30—40 Minuten eingelegt und alsdann das Methylenblau nach einem der angegebenen Verfahren fixirt. Nach einer derartigen Bearbeitung erhält die Grundsubstanz des Bindegewebes eine mehr oder weniger intensive blaue Farbe, während die Saftlücken, die Saftkanäle, die Lymph- und Blutgefässe weiss — ungefärbt — erscheinen. In den Gefässen treten ausserdem deutlich die Grenzen zwischen den Epithelzellen sowie den glatten Muskelfasern hervor, wie auf den mit salpetersaurem Silber imprägnirten Präparaten. In einigen Fällen werden statt negativer Bilder positive erhalten, d. h. die Saftlücken, Lymphgefässe u. dergl. sind gefärbt, während die Grundsubstanz weiss bleibt. Die auf diese Weise erhaltenen Präparate sind überhaupt viel reiner und demonstrativer als die mit salpetersaurem Silber behandelten, ausserdem verändern sie sich nicht (dunkeln nicht nach), wie es häufig mit den letzteren der Fall ist.

Fast gleichzeitig kam S. Mayer zu denselben Resultaten wie ich, indem er im Verlauf von 10 Minuten die Gewebe mit Methylenblaulösungen färbte. Für die Imprägnation wendet er eine Lösung von 1 Theil Methylenblau auf 300—400 Theile einer $^1/_2{}^0/_0$igen Kochsalzlösung an und führte alsdann die Präparate in ein Gemisch von Glycerin mit einer gesättigten Lösung von Ammoniumpikrat über. Wird die Methylenblaulösung in die Blutgefässe eingeführt, so erhält man nach den Beobachtungen von Mayer häufiger positive als negative Bilder der Saftlücken, Gefässe u. dergl.

Litteratur: 1) Apáthy (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), derselbe (Mitth. zool. Stat. Neapel, Bd. 12, 1897), 2) C. Arnstein (Anat. Anz., 1887), 3) Aronson (Inaug.-Dissert., Berlin 1886), 4) A. Bethe (Arch. mikr. Anat., Bd. 44, 1894), derselbe (ebenda), derselbe (Biolog. Centralbl., Bd. 15, 1895), derselbe (Anat. Anz., Bd. 12, 1896), derselbe (ebenda), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 50, 1897), derselbe (ebenda, Bd. 51, 1898), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), 5) Biedermann (Sitzb. Akad. Wiss. Wien, Bd. 96, 1888), 6) Buchaloff (Arb. Nat.-Ges. Kais. Univ. Kasan, Bd. 10, 1889 [russisch]), 7) A. S. Dogiel (Arch. mikr. Anat., Bd. 35, 1890), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891, derselbe (ebenda, Bd. 38), derselbe (Arb. Nat.-Ges. Tomsk, Jahrg. III, 1892), derselbe (Arch. Anat., 1891 u. Int. Mon. Anat. Physiol., Bd. 9, 1892), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 41, 1893), derselbe (ebenda, Bd. 42), derselbe (ebenda, Bd. 44), derselbe (ebenda), derselbe (ebenda, Bd. 52), derselbe (ebenda, Bd. 56), derselbe (Int. Mon. Anat. Physiol., Bd. 14, 1897), derselbe (Arch. Anat., 1898, Suppl.), derselbe Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 56, 1899), derselbe (Arch. mikr Anat., Bd. 59, 1901), 8) Ehrlich (Deutsche med. Woch., 1886), 9) Freidenfeld (Zool. Jahrb., Bd. 9, 1896), 10) Gerlach (Sitzb. bayr. Akad. Wiss., Bd. 29, 1889), 11) G. Carl Huber (Journal comp. Neurol., Bd. 7, 1897), derselbe und Mrs. Lydia de Witt (ebenda, Bd. 7, 1898), 12) Joseph (Anat. Anz., 3. Jahrg., 1888), 13) Iwanoff (Inaug.-Diss., Kasan 1893 [russisch]), 14) Korolkoff (Anat. Anz.,

1892), derselbe (Arb. Nat.-Ges. St. Petersburg, Bd. 30, 1899), [15]) Kühn (Arch. Anat., 1890), [16]) Lawdowsky (Beilage zu d. Ber. kais. Akad. Wiss. St. Petersburg, 1889, Bd. 61), derselbe (Zeitschr. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895), [17]) Leontowitsch (Ber. kais. Akad. Wiss. St. Petersburg, Bd. 9, 1900), derselbe (Int. Mon. Anat. Physiol., Bd. 18, 1901), [18]) A. E. Loweland (Trans. Amer. Micr. Soc., Bd. 19, 1897), [19]) A. Morkowitin (Trav. Soc. Imp. Natural. St. Petersburg 1901 [russisch]), [20]) S. Mayer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), [21]) Semi Meyer (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), [22]) Nemiloff (Vorgelegt in der Abtheil. f. Zoologie u. Physiologie der kais Nat.-Ges. St. Petersburg d. 23. Okt. 1900), [23]) Niemack (Anat. Hefte 1892), [24]) Pal (Med. Jahrb., Wien 1887), [25]) Parker (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 12, 1895), [26]) Ploschko (Inaug.-Dissert., Kasan 1896 [russisch]), derselbe (Anat. Anz., Bd. 13, 1897), [27]) Ramon-y-Cajal (Rev. trimestr. microgr., Bd. 1, 1896), [28]) G. Retzius (Biol. Unters., N. F. 1, 1890), derselbe (ebenda, N. F. 2, 1891), derselbe (ebenda, N. F. 3, 1892), derselbe (ebenda, N. F. 7, 1895), derselbe (ebenda, N. F. 8, 1898), [29]) Smirnoff (Inaug.-Dissert., Kasan 1891 [russisch]), derselbe (Beilage zu den Protokollen der Nat.-Ges. Kasan 1899), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 35, 1890), [30]) A. Sokoloff (Anat. Anz., Bd. 16, 1899), [31]) Timofeew (Inaug.-Dissert., Kasan 1896 [russisch]), derselbe (Anat. Anz., Bd. 11), [32]) Tretjakoff) Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 56, 1901). *Dogiel,* St. Petersburg.

Methylenjodid, $CH_2\ J_2$, gelbliche, das Licht stark brechende Flüssigkeit vom specifischen Gewicht 3,324 bei 15°. Bei 0° bildet es glänzende Blätter, die bei + 4° schmelzen.

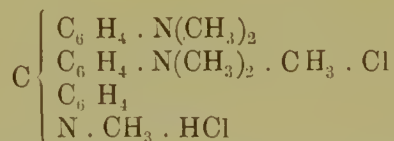
Methylenjodid hat einen Brechungsindex von 1,743, d. h. also einen hohen Index, und ist von Madan als Untersuchungsmedium empfohlen worden.

Litteratur: Madan, Journ. R. Micr. Soc. 1892. *Mosse,* Berlin.

Methylenroth und Methylenviolett siehe Methylenblau.

Methyleosin siehe Eosin.

Methylgrün, Syn. Lichtgrün, Vert Lumière, Doppelgrün (Berlin, Elberfeld)



$$C\begin{cases} C_6\ H_4\ .\ N(CH_3)_2 \\ C_6\ H_4\ .\ N(CH_3)_2\ .\ CH_3\ .\ Cl \\ C_6\ H_4 \\ N\ .\ CH_3\ .\ HCl \end{cases}$$

Triphenylmethanfarbstoff, der ein Abkömmling des Methylvioletts ist und aus diesem durch Behandlung mit Chlormethyl erhalten wird. Es kommt in den Handel als Chlorzinkdoppelsalz in grünen Krystallen, die in Wasser zu ca. 8% löslich, in absolutem Alkohol wenig löslich, in Amylalkohol oder Chloroform fast unlöslich sind. In Schwefelsäure mit rother Farbe löslich. Die wässerige Lösung wird mit Salzsäure rothgelb, mit Natronlauge entfärbt sie sich. Nach Mayer enthält das Methylgrün von der Fabrikation her immer noch etwas unzersetztes Methylviolett, das sich durch Ausschütteln der wässerigen Lösung mit Chloroform entfernen lässt. Auch beim Kochen von Methylgrünlösungen entsteht Methylviolett, indem Chlormethyl ausgetrieben wird.

In der technischen Färberei wird das Methylgrün nur noch wenig angewandt. Es hat nur eine geringe Färbekraft für Wolle. Um dieselbe zu erhöhen, beizt man die letztere vorher mit Schwefel, indem man sie in ein Bad bringt, das aus unterschwefligsaurem Natron und Schwefelsäure besteht.

Das Methylgrün ist einer unserer besten und am meisten verwendeten Kernfarbstoffe, es überfärbt nicht und ergiebt eine rein grüne, meist etwas blaustichige Chromatinfärbung. Während sich in fixirten Präparaten (Sublimat) das Chromatin der ruhenden Kerne bläulich färbt, erscheinen die in Mitose befindlichen Kerne rein und leuchtend grün gefärbt.

Ausgezeichnete Dienste leistet das Methylgrün zur Färbung frischer Präparate, es scheint auch ohne weiteren Zusatz ein leichtes Fixationsmittel

zu sein, das die Kerne rasch abtödtet. Meistens verwendet man es in dünner Lösung mit 0,5 bis 1% Essigsäure (STRASBURGER) oder auch in physiologischer Kochsalzlösung gelöst (ARNOLD) oder dünnen Osmiumlösungen (0,1 bis 0,5%) oder Uranacetat (SCHENK). RIPART und PETIT haben zur Fixirung, Färbung und temporären Konservirung zarter Objekte ein von französischen Cytologen vor allem viel gebrauchtes Gemisch zusammengestellt. Dasselbe besteht aus Kupferacetat und Kupferchlorid je 0,3 Grm., Eisessig 1 Ccm. und schwaches Kampherwasser 150 Ccm. Löst man in diesem Gemisch etwas Methylgrün, so werden die Präparate sehr zart und fast momentan fixirt.

Noch wichtigere Dienste als für frische Präparate leistet aber das Methylgrün zur Färbung fixirter Präparate, auch hier färbt es in erster Linie das Chromatin der Kerne, daneben aber auch mehr oder weniger intensiv den Schleim und Knorpel. Meist wird das Methylgrün mit einem oder mehreren anderen, und zwar Plasmafarbstoffen kombinirt. Es giebt eine grosse Zahl derartiger Gemische, deren wichtigstes das EHRLICH-BIONDI'sche ist (siehe dort). LIST kombinirt Methylgrün mit Eosin (Näheres siehe Eosin), GRÅBERG mit Bordeaux R und Thionin (Näheres siehe Bordeaux), BERGONZINI mit Goldorange und Säurefuchsin (Näheres siehe Goldorange).

Während in allen diesen Gemischen das Methylgrün die Kernfarbe repräsentirt, wird es von GALEOTTI zum Plasmafarbstoff gemacht. Die Präparate werden in HERMANN'scher Flüssigkeit fixirt, in der das Platinchlorid durch Palladiumchlorür ersetzt ist, 24—48 Stunden lang, 3—4 Stunden in fliessendem Wasser ausgewaschen, entwässert und eingebettet. Färbung der Schnitte 5 Minuten in konc. Anilinwasser-Säurefuchsin bei 60°, auswaschen in fliessendem Wasser, übertragen wenige Sekunden in konc. alkoholische Pikrinsäure (statt deren auch Aurantia oder Chrysamin), die mit zwei Theilen Wasser verdünnt ist, auswaschen in fliessendem Wasser und nachfärben 3—4 Minuten lang in 1½%iger Lösung von Methylgrün in 40—50%igem Alkohol, auswaschen in Wasser, absolutem Alkohol, bis kein Methylgrün mehr auszieht, Xylol, Balsam. Roth alle Elemente des Kerns mit Ausnahme der Nukleolen, ferner die acidophilen Granulationen und die Körnchen des Cytoplasmas. Grün die Nukleolen, Protoplasma mit Centrosoma und Spindelfäden und die basophilen Granulationen.

Den vielen guten Eigenschaften des Methylgrüns gesellt sich aber eine recht unangenehme zu, es ist nämlich in seinen Färbungen wenig haltbar, und zwar meist ganz unberechenbar; während sich das eine Präparat jahrelang unverändert hält, blasst das andere schon nach wenigen Monaten aus. Vielleicht handelt es sich in den letzteren Fällen um stark sauren Balsam, in dem die Präparate eingeschlossen waren.

Methylgemisch oder Methylmixtur. Eine Mischung von 1 Vol. Methylalkohol, 10 Vol. Glycerin und 20 Vol. Wasser, die von SCHIEFFERDECKER zur Maceration von Nervenzellen, Gliazellen und Retinaelementen empfohlen worden ist. (Siehe auch Maceration.)

Litteratur: SCHIEFFERDECKER (Arch. mikr. Anat., Bd. 28, 1887).

Methylorange, Syn. für Goldorange.

Methylsalicylat, $C_6H_4\left\{\begin{matrix}CH\\CO.OCH_3\end{matrix}\right.$, der Methyläther der Salicylsäure, findet sich in dem Gaultherialöl und stellt eine farblose Flüssigkeit von aromatischem Geruch dar. Er mischt sich in jedem Verhältniss mit Alkohol, Benzol, Toluol, Aether, Chloroform, ist aber gegen Wasser sehr empfindlich.

Er ist ein gutes Lösungsmittel für Harze, Balsame und Paraffin. Spec. Gew. 1,18, Brechungsindex 1,537.

Das Methylsalicyat ist als Aufhellungsmittel (Stieda), als Lösungsmittel für Kanadabalsam (Unna) und als Intermedium für Paraffin (Guéguen) empfohlen worden. In letzterer Beziehung soll es manche Vortheile haben, es soll die Objekte leicht durchtränken und weder brüchig machen noch schrumpfen. Nach unserer Erfahrung hat es jedoch keine Vorzüge vor dem Chloroform. Mayer rühmt es auch als Einschlussmittel; es muss natürlich umrandet werden.

Litteratur: Stieda (Arch. mikr. Anat., Bd. 2, 1867), Unna (Mon. prakt. Dermat., 1885), Guéguen (C. R. Soc. Biol., Bd. 5, 1898).

Methylviolett, Syn. Pariser Violett, Pyoktanin, das salzsaure Salz des Penta- und Hexamethylpararosanilins (Berlin, Elberfeld, Ludwigshafen). Kommt auch als Zinkdoppelsalz in den Handel. Grünlich glänzendes Pulver oder Krystalle, die in Wasser, Alkohol, Amylalkohol und Chloroform mit violetter Farbe löslich sind. In Schwefelsäure mit gelber Farbe löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure blau bis braun, mit Natronlauge entsteht ein brauner Niederschlag. Die Handelsmarken werden je nach der Zahl der eingeführten Methylgruppen und der dadurch bedingten Blaustichigkeit der Färbung als B, 2 B, 3 B—7 B bezeichnet. Von ihnen werden die letzten erhalten durch Benzylirung des Methylenvioletts und auch als Benzylviolett bezeichnet.

In der technischen Färberei wird es entweder im Seifenbad (Wolle und Seide) oder nach Behandlung mit Tannin-Brechweinstein, Türkischrothöl oder essigsaurer Thonerde benutzt.

Das Methylviolett ist Anfang der Siebzigerjahre von Hermann in die Mikrotechnik eingeführt worden, hat aber nie eine so ausgedehnte Anwendung gefunden, wie etwa das Methylgrün oder das unreine Gentianaviolett. Nur in der bakteriologischen und pathologisch-anatomischen Technik hat es sich einer grösseren Beachtung erfreut. Man verwendet es entweder in dünner, wässeriger Lösung (Graser) oder in alkoholischer, mit Oxalsäure angesäuerter Lösung (Weigert, koncentrirte Lösung in 70% Alkohol mit Zusatz von 5% einer 5%igen wässerigen Oxalsäure) oder in einer Anilinwasserlösung (Weigert, koncentrirte alkoholische Methylviolettlösung 11 Ccm., absoluter Alkohol 10 Ccm., Anilinwasser 100 Ccm.). Zum Differenziren dient entweder Alkohol oder verdünnte Salpetersäure (1:3) oder Jodjodkalium und Alkohol nach Gram oder schliesslich Jodjodkalium und Anilinxylol nach vorhergegangenem Abtrocknen der Schnitte (Weigert).

Das Methylviolett ist ähnlich wie das Methylgrün ein gutes Kernfärbungsmittel und kann auch mit Vortheil wie jenes zur Färbung frischer Präparate benutzt werden. Es besitzt stark metachromatische Eigenschaften, die es zum Nachweis von Schleim, Glykogen und Amyloid werthvoll machen. (Näheres siehe Metachromasie, Schleimfärbung, Amyloid und Glykogen.)

Litteratur: Graser (Deutsch. Zeit. Chir., Bd. 27, 1888), Weigert (Fort. Med., Bd. 5, 1887).

Methylwasserblau, Syn. für Methylblau (Ludwigshafen).

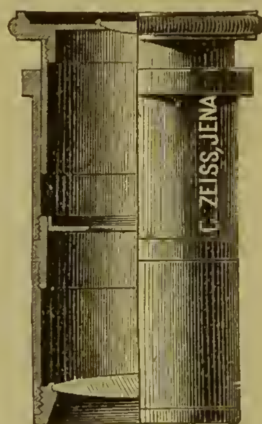
Mikroaquarium siehe Lebendes Objekt, Beobachtung desselben.

Mikrometer. Zur Messung der reellen Grösse mikroskopischer Präparate bedient man sich besonderer Vorrichtungen, meistens feiner, auf Glas eingeritzter Massstäbe, welche man als Mikrometer bezeichnet und die

je nach der Stelle, an welcher sie am Mikroskop angebracht werden, als Okular-, Objektiv- und Objektmikrometer bezeichnet werden. Das Okularmikrometer wird in das Okular eingefügt, das Objektivmikrometer tritt an die Stelle des Objekts und das Objektmikrometer wird unterhalb des ABBÉ'schen Beleuchtungsapparates angebracht. Entweder handelt es sich um einfache Massstäbe, welche ein direktes Ablesen der Grösse erlauben, Mikrometer im engeren Sinne, oder um komplicirtere, durch Schrauben bewegte Vorrichtungen, bei denen die wirkliche Grösse des Objektes durch die Zahl der Schraubenumdrehungen erhalten wird, Schraubenmikrometer.

Das bei weitem am meisten verwendete Mikrometer ist der Okularmeter. Es ist das ein rundes Glasplättchen, das in seiner Mitte eine eingeritzte Theilung trägt, meistens 5 Mm. in Zehntelmillimeter eingetheilt. Dieses Plättchen wird in das Okular zwischen Augen- und Kollektivlinse eingelegt. und zwar an die Stelle, wo im Okular das reelle Bild erzeugt wird und sich eine Blendung befindet. Man lege das Mikrometer immer mit der Theilung nach unten. Es wird nun sowohl von dem reellen Bild des Objekts, als auch von der an der gleichen Stelle gelegenen Mikrometertheilung ein vergrössertes virtuelles Bild durch die Augenlinse des Okulars entworfen. Je stärker das Okular, desto stärker die Vergrösserung beider. Um nun die Mikrometerskala genau für jedes Auge einstellen zu können, haben die meisten Firmen besondere Messokulare konstruirt (siehe Fig. 62), bei denen sich die Entfernung der Augenlinse vom Mikrometer verstellen lässt. Bei den SEIBERT'schen Mikroskopen älterer Konstruktion wurde das Mikrometer in Form eines Objektträgers in Metall gefasst und seitlich durch einen Schlitz in das Okular eingeschoben.

Fig. 62.



Natürlicherweise wird jeder Theilstrich des Mikrometers seinen absoluten Werth mit der Stärke des verwendeten Objektivs ändern, und zwar wird dieser Werth um so kleiner, je stärker das Objektiv ist. Den absoluten Werth des Mikrometers kann man für jedes Objektiv durch Vergleich mit einem Objektivmikrometer bestimmen, doch ist das meistens unnöthig, da die meisten Firmen den von ihnen gelieferten Mikrometern genaue Werthtabellen für die einzelnen Systeme bei bestimmter Tubuslänge (für ZEISS 160, für LEITZ 155 Mm.) beigeben. So betragen z. B. für Ok. 2 die Mikrometerwerthe bei

ZEISS	A = 16,3 μ	B = 10.9 μ	C = 6,7 μ	D = 3,9 μ	E = 2,6 μ	F = 1,72 μ	$^{1}/_{12}$ = 1,67 μ.
LEITZ	1 = 59 μ	2 = 27 μ	3 = 17 μ	4 = 11 μ	5 = 4,9 μ	6 = 3,7 μ	$^{1}/_{12}$ = 1,8 μ.

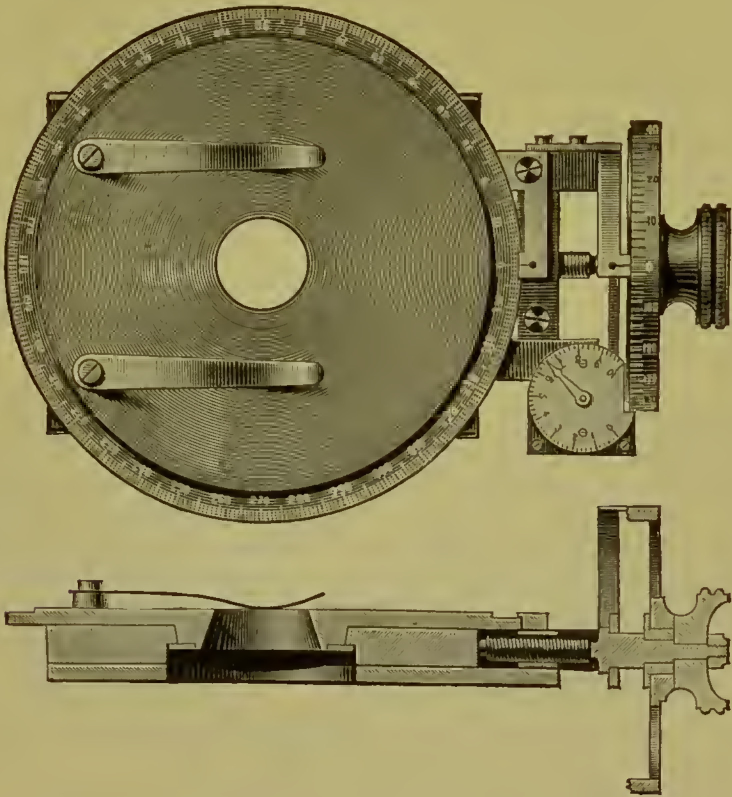
Sehr einfach gestaltet sich die Berechnung bei den ZEISS'schen Apochromaten. Benutzt man hier das Kompensationsokular 6, so beträgt der Werth eines Theilstriches des Mikrometers ungefähr so viel Mikromillimeter als die Brennweite des Apochromats in Millimetern. Alle diese Zahlenangaben sind jedoch nur approximativ.

Der wesentlichste Theil des Okularschraubenmikrometers ist eine sehr gut gearbeitete Mikrometerschraube, deren einzelne Gänge sehr gleichmässig und fein geschnitten sein müssen. An der Stelle der Blendung liegt auch hier wieder ein Glasplättchen, das aber keine Theilung, sondern nur eine Marke, meistens ein Strichkreuz eingeritzt enthält. Dieses Plättchen ist durch die seitlich angebrachte Mikrometerschraube in einer Ausdehnung von mehreren Millimetern verschieblich. Die Länge der verschobenen Strecke wird abgelesen an einer grösseren, an der Mikrometerschraube befindlichen Trommel. Will man nun ein Objekt messen, so wird man das eine Ende genau in den Schnittpunkt des Strichkreuzes einstellen und dann durch

Drehung der Mikrometerschraube das Strichkreuz bis an das andere Ende bewegen. Man liest dann an der Trommel die Zahl der Theilstriche ab und multiplicirt sie mit dem Werth, den jeder Theilstrich für das betreffende Objektiv besitzt, denn auch hier ist dieser Werth, wie oben, veränderlich.

Das Objektivmikrometer wird meistens in der Form eines Objektträgers hergestellt, der in der Mitte, durch ein Deckglas geschützt, eine feine Theilung trägt, gewöhnlich 1 Mm. in 100 Theile getheilt. Um mit dem Objektivmikrometer mikroskopische Objekte zu messen, kann man sich eines Spitzenokulars bedienen, ein Okular, das an der Stelle der Blende zwei feine durch Schrauben gegen einander verstellbare Spitzen trägt. Man stellt dann die beiden Spitzen so ein, dass sie das zu messende Objekt genau zwischen sich fassen, legt statt des mikroskopischen Präparates das Mikro-

Fig. 63.



meter unter, stellt mit demselben Objektiv die Mikrometerskala genau ein und liest die Entfernung der Spitzen in $^{1}/_{100}$ Milimetern direkt ab.

Ein anderes sehr empfehlenswerthes Verfahren schlägt Francotte ein. Er zeichnet sich mittels des Zeichenapparats die Mikrometerskala für jedes von ihm verwendete Objektiv, eventuell auch mit mehreren Okularen auf je einen Objektträger mit Tusche auf und schliesst diese Theilung in Kanadabalsam ein. Will man nun ein bestimmtes Objekt messen, so braucht man sich nur mittels des Zeichenapparats eine Umrisszeichnung davon anzufertigen und kann dann mit der entsprechenden Skala die Grösse direkt ablesen. Um parallaktische Fehler zu vermeiden, muss man dabei die Deckglasseite auf die Zeichnung auflegen.

Das Objektivschraubenmikrometer zeigt eine ganz ähnliche Einrichtung wie das Okularmikrometer (Fig. 63). Es wird auf den Objekttisch aufgesetzt und besteht wiederum aus einer Mikrometerschraube mit Ablesetrommel, die aber diesmal nicht ein Fadenkreuz, sondern das auf einem Schlitten zu befestigende Objekt selbst bewegt. Das Punctum fixum bildet hier ein im

Okular angebrachtes Fadenkreuz. Das eine Ende des zu messenden Objekts wird auf das Fadenkreuz eingestellt und dann durch Drehung der Mikrometerschraube das andere Ende eingestellt. Man kann nun an der Trommel direkt die Länge des Objekts ablesen. So beträgt z. B. bei dem hier abgebildeten ZEISS'schen Objektivschraubenmikrometer der Werth eines Theilstrichs 2 μ.

Von einer ganz anderen, allerdings schon vor über 60 Jahren von GORING entwickelten Idee, ging HAMMARBERG bei der Konstruktion seines Objektmikrometers aus. Er brachte eine Glasplatte mit Theilung unterhalb des Objekttisches an und liess nun durch den ABBE'schen Beleuchtungsapparat ein reelles Bild dieses Massstabs genau in die Objektebene entwerfen. BERGER hat dieses Instrument noch vervollkommnet, er benutzt ein gewöhnliches Okularmikrometer mit geschwärzter Theilung und bringt dasselbe durch einen Trieb beweglich zwischen ABBE'schen Beleuchtungsapparat und Irisblende an. Durch Nähern und Entfernen des Mikrometers von ersterem kann das Bild der Skala vergrössert und verkleinert werden.

Was die Verwendbarkeit der einzelnen Mikrometerarten anlangt, so genügt, wie schon bemerkt, für die gewöhnlichen Messungen ein Okularmikrometer. Handelt es sich um sehr genaue Messungen oder um die Messung sehr grosser Objekte, welche nicht in das Gesichtsfeld ganz hineingehen, so wird man sich eines Objektivschraubenmikrometers bedienen müssen.

Wer sich für die Litteratur und die Details der Mikrometrie näher interessirt, vergleiche APÁTHY (Die Mikrotechnik der thierischen Morphologie, II. Abth., Leipzig 1901).

Mikrometerschraube. Während die grobe Einstellung bei den kleineren Mikroskopen durch einfaches Verschieben des Tubus in seiner Hülse mit der Hand, bei den grösseren Stativen mittels Zahn und Trieb erfolgt, geschieht die Feineinstellung mittels der Mikrometerschraube, d. i. eine sehr fein und exakt geschnittene Schraube, welche entweder den Mikroskoptisch oder den Tubus bewegt. Die erstere Art der Konstruktion, Bewegung des Objekttisches durch die Mikrometerschraube, können wir als veraltet füglich übergehen. Heutzutage wird ausschliesslich der Mikroskoptubus durch die Mikrometerschraube bewegt.

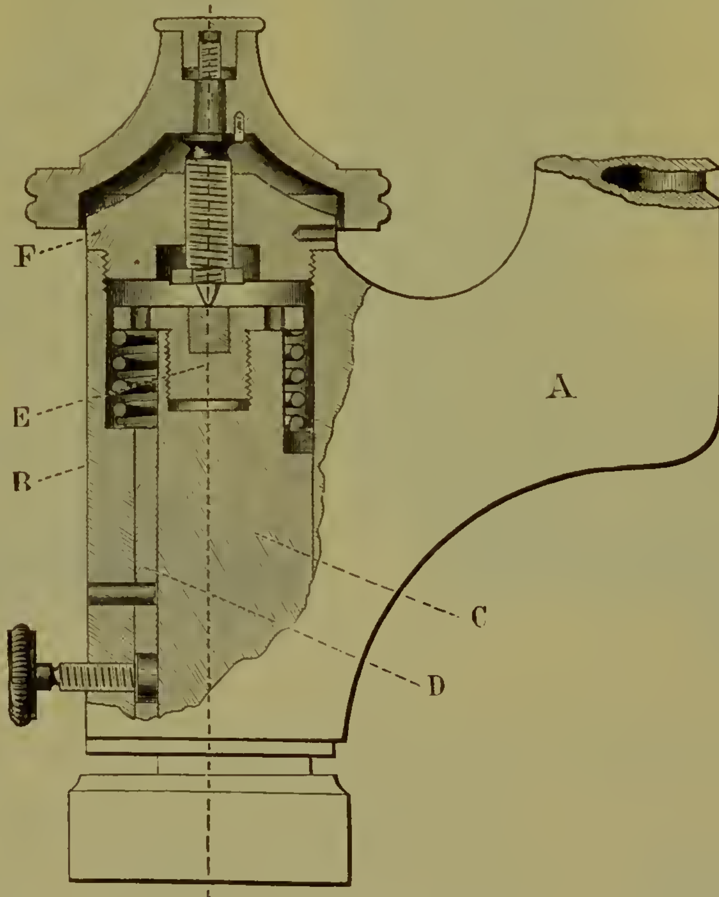
Von einer guten Mikrometerschraube muss man verlangen, dass sie hinreichend fein geschnitten ist, völlig gleichmässig geht, keine todten Gänge besitzt und keine seitlichen Abweichungen zulässt.

Als Typ der Mikrometerschraube soll im folgenden die Einrichtung beschrieben werden, wie sie bei den grösseren ZEISS'schen Instrumenten sich findet. Aus dem Objekttisch erhebt sich, fest mit ihm verschraubt, ein dreiseitiges Prisma *C* (Fig. 64). Es wird umgeben von einem Hohlprisma *B*, welches in fester Verbindung mit dem Tubusträger *A* steht, und an dessen hinterer Fläche eine federnde Messingplatte *D* angebracht ist, die durch ihre Federkraft ein sicheres und leichtes Gleiten des Hohlprismas an dem massiven Prisma bewirkt. An dem oberen Ende der beiden Prismen ist durch Abkanten des massiven und Ausdrehen des Hohlprismas zwischen beiden Prismen ein Zwischenraum geschaffen, in welchem eine Stahlspirale liegt. Sie stösst oben gegen eine mit dem massiven Prisma *C* fest verbundene Platte, unten liegt sie auf dem Rande des Hohlprismas *B* auf, wird also das letztere und den mit ihm verbundenen Tubusträger nach unten gegen den Objekttisch drücken. Das Hohlprisma ist oben durch ein eingeschraubtes Verschlussstück *F* geschlossen, durch dessen Mitte die in einem Hut endigende Mikrometerschraube durchgeht. Die abgerundete Spitze der letzteren ruht auf der oberen Platte des massiven Prismas. Wird nun die

Mikrometerschraube, respektive ihr oberer Hut nach links gedreht, so tritt ihre Spitze aus dem Verschlussstück heraus, die Spiralfeder wird zusammengedrückt und der ganze Hohlcylinder mit dem Tubus hebt sich, es wird also das Objektiv vom Objekt entfernt. Wird dagegen die Mikrometerschraube nach rechts gedreht, so sinkt der Hohlcylinder einmal infolge der Schwere, dann aber auch durch die Wirkung der Feder nach unten und das Objektiv wird dem Objekt genähert. Natürlich kann die Mikrometerschraube nur dann nach beiden Seiten spielen, wenn sie sich in einer Mittelstellung befindet und zwischen dem Objekttisch und dem Hohlprisma ein Zwischenraum ist.

Eine ganz andere Konstruktion der Mikrometerschraube hat Zeiss an seinem neuesten (Fig. 71) Stativ eingeführt. Ihren Bau zeigt Fig. 65. Die

Fig. 64.



Prismenführung ist hier ganz aufgegeben und an ihre Stelle tritt die Schlittenführung. Die Mikrometerschraube liegt etwas über dem Objekttisch. Der äusserlich sichtbare Knopf gehört zu einer Schraube ohne Ende, welche die Bewegung vermittels eines Schneckenrades auf die eigentliche, vertikal stehende Mikrometerschraube überträgt. Die letztere läuft in einer Art Mutter, welche oben mit einer Feder verbunden ist und den Schlitten für den Tubus bewegt.

Eine sehr interessante und gänzlich von den früheren verschiedene Art der Mikrometerschraube hat die Firma Leitz bei ihrem grossen neuen Stativ (Fig. 66) eingeführt. Der Kopf der Mikrometerschraube ist ähnlich wie bei dem vorigen über dem Tisch unterhalb des Triebkopfes horizontal angebracht. Er geht über in eine Schraube ohne Ende *a* (Fig. 67), die ihrerseits wiederum ein Schneckenrad *d* bewegt. Diesem Schneckenrad sitzt nun

excentrisch ein Herzstück *f* auf, dessen höchster Punkt, Spitze, von dem tiefsten Punkt, Kerbe, um 3 Mm. entfernt ist. Auf dem Herzstück schleift

Fig. 65.

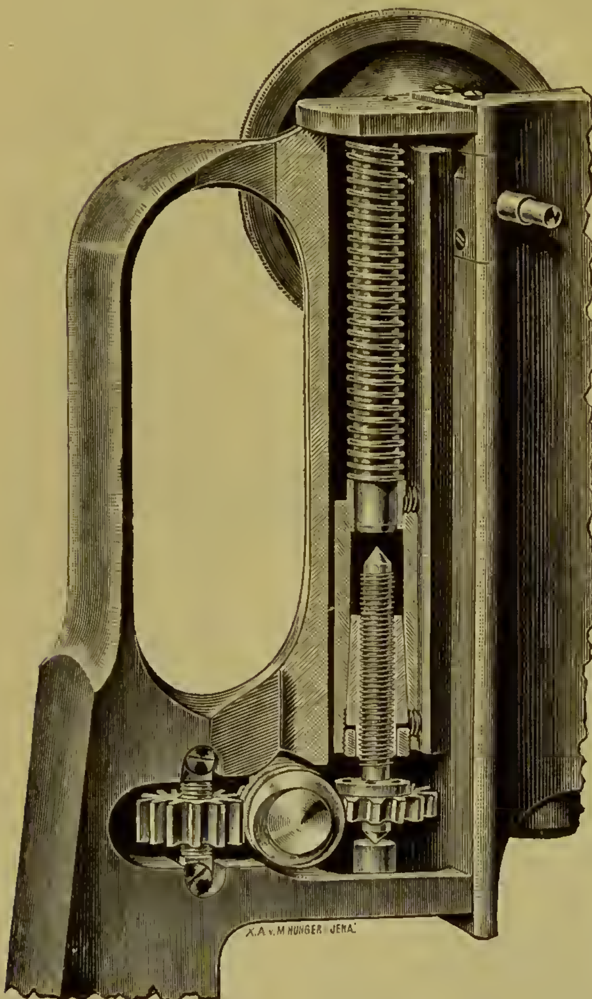
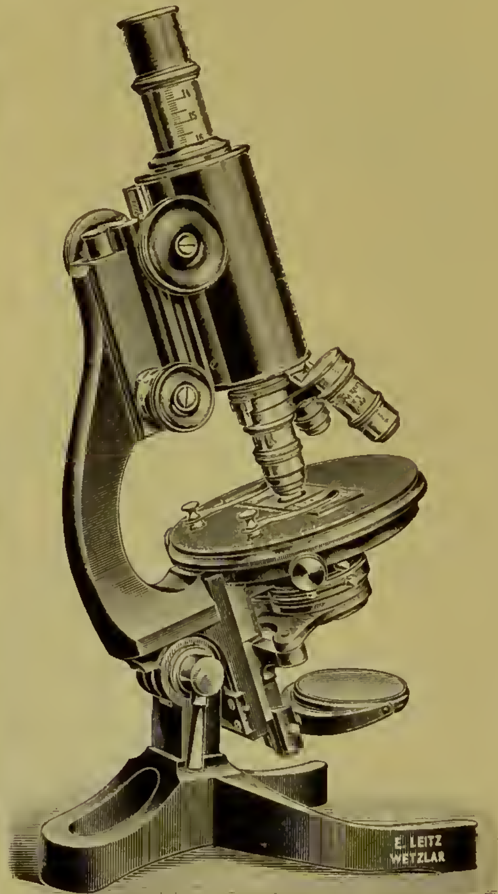
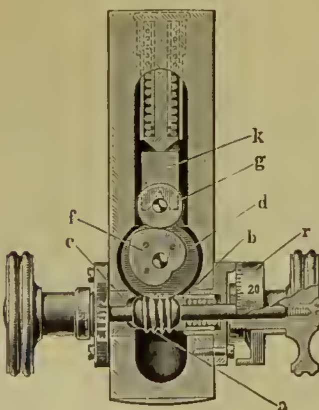


Fig. 66.



die Rolle *g* und diese ist wiederum durch den Träger *k* mit dem Tubusträger fest verbunden. Wird nun der Schraubenkopf nach vorn gedreht, so bewegt sich das Schneckenrad nach rechts und der Tubus wird so lange gehoben, bis die Rolle auf der Spitze des Herzstückes angelangt ist. Wird dann noch weiter gedreht, so muss sich der Tubus wieder senken, bis die Rolle in der Kerbe des Herzstücks angelangt ist, dann beginnt wieder die Steigung. Wir haben also hier gewissermassen eine Mikrometerschraube ohne Ende vor uns. Das ist ein nicht unwesentlicher Vortheil, der noch dadurch gesteigert wird, dass der Federdruck, der bei dieser Konstruktion nöthig wird, ein ganz minimaler ist und damit auch die Gefahr geringer wird, durch unvorsichtige Handhabung der Mikrometerschraube das Deckglas zu zerdrücken, respektive das Objektiv zu beschädigen. Ausserdem ist die Bewegung eine sehr feine, da eine ganze Umdrehung der Achse einer Hebung um nur 0,1 Mm. entspricht.

Fig. 67.



Mikrophotographie. Die photographische Aufnahme mikroskopischer oder Lupenpräparate in vergrössertem Massstabe. Die direkten Vergrösserungen, welche durch die Mikrophotographie gemeinhin erreicht werden, erstrecken sich von 1 bis ca. 3000 linear, nur sehr selten höher, bis über 10.000 (ZETTNOW). Es ist wohl am naturgemässesten, auch die schwachen Vergrösserungen von Uebersichtspräparaten, ca. 1—10 linear, in das Gebiet der Mikrophotographie zu rechnen. — Ueber den Werth und die Bedeutung der Mikrophotographie sind die Ansichten noch sehr getheilt, hauptsächlich weil Mikrophotogramme von äusserst verschiedener Güte publicirt werden. Während man ihren Werth für die Aufnahmen von Mikroorganismen, sowie für die Auflösung der feinsten Strukturen z. B. von Diatomaceenschalen allgemein anerkennt, ist dies in Bezug auf ihre Verwendung zur Darstellung einfacher und zusammengesetzter thierischer oder pflanzlicher Gewebs- und Organpräparate durchaus nicht der Fall. Das eine steht gewiss fest, dass die Mikrophotographie die von kundiger Hand entworfene Zeichnung eines Gewebspräparates nur in seltenen Fällen vollkommen zu ersetzen imstande sein wird. Dies hat seine einfachen Gründe: der Zeichner kann und wird fast immer dasjenige besonders hervorheben, worauf es ihm im Bilde besonders ankommt, und alles, was ihm für seine Darstellung überflüssig oder störend erscheint, nebensächlich behandeln oder ganz weglassen; endlich kombinirt er die Bilder aus verschiedenen Ebenen dickerer Präparate vielfach zu einem Gesammtbilde, welches keine Unschärfen aufweist, ebensowenig wie das Gesammtbild. das er sich im Geiste von seinem Präparate aus den auf einander folgenden Einstellungen in den verschiedenen Ebenen desselben zusammensetzt. Beim mikrophotographischen Verfahren wird nur eine bestimmte gewölbte Fläche — nicht einmal eine Ebene — des Präparates scharf abgebildet, die nämlich, auf welche das Objektiv gerade scharf eingestellt ist; alles andere, was oberhalb und unterhalb dieser Fläche liegt, wird gleichfalls abgebildet, jedoch unscharf, und zwar desto unschärfer, je grösser die Dicke des Präparates und je stärker die Vergrösserung ist. Zweitens bildet die Photographie natürlich alles ab, was sich im Gesichtsfelde befindet: das, worauf es ankommt und das, worauf es nicht ankommt; ja, man sieht mitunter Mikrophotogramme, in denen fast alles deutlicher hervortritt als gerade das, worauf es ankommt. Einige Schuld liegt in solchen Fällen oft an dem Verfahren, sehr viele aber zumeist an den Präparaten selbst. Nicht nur dass, wie FRAENKEL und PFEIFFER sagen, die besten Präparate für die Mikrophotographie eben gut genug sind, und dieser Satz bei der Auswahl von Präparaten für die Photographie stets als oberster Grundsatz gelten soll: ein solches Präparat muss auch, wenn es später ein wirklich gutes und schönes Bild geben soll, von allem Anbeginne eben mit Rücksichtnahme auf seine spätere photographische Aufnahme besonders sorgfältig und rein präparirt, wenn die Färbung innerhalb gewisser Grenzen freisteht, mit den für die Photographie am besten geeigneten Farbstoffen, im allgemeinen etwas stärker, als man dies für die gewöhnliche Beobachtung zu thun gewohnt ist, gefärbt werden; endlich muss das Präparat so dünn als möglich und, je höher die für die Photographie gewünschte Vergrösserung liegt, desto dünner aufpräparirt oder geschnitten sein und vollkommen eben auf dem Objektträger liegen. ZETTNOW wählt für Bakterienaufnahmen bei 1000—1500facher Vergrösserung Paraffinschnitte von 1—2 μ Dicke. Die Berücksichtigung aller dieser Punkte schadet übrigens — nebenbei bemerkt — auch der gewöhnlichen Beobachtung meistens nicht! Präparate, welche die erwähnten Haupteigenschaften nicht besitzen, sollten überhaupt nicht photographirt werden: trotz aller Mühe und Anwendung aller erdenklichen Kniffe wird das Bild nie ein ganz befriedigendes werden. Der Präparator soll sich selbst bemühen und ein für die Photo-

graphie geeignetes Präparat herstellen und nicht vom Mikrophotographen — der er selbst sein kann — das Unmögliche fordern, dass er nach einem ungeeigneten Präparate ein vollkommenes Negativ herstelle! — Immerhin wird man auch schlechte Präparate zu einem Zwecke photographiren können, der noch wenig beachtet wird und doch viel Zeit und Mühe sparen hilft, nämlich um das so hergestellte Bild zur Grundlage für die Herstellung einer genauen Zeichnung zu nehmen, anstatt dazu den Zeichenapparat zu verwenden.

Was die Photographie vor der Zeichnung voraus hat, ist ihre Objektivität und unbedingte Verlässlichkeit, die Genauigkeit der Wiedergabe aller Grössenverhältnisse und endlich für denjenigen, der sie einmal beherrscht, die geringe Anstrengung und grosse Zeitersparniss bei ihrer Anwendung, namentlich bei grösserer Zahl der aufzunehmenden Präparate. Die Retouche soll in der Mikrophotographie vollständig ausgeschlossen bleiben. — Die Schwierigkeiten der Technik sind für den sorgfältigen und genauen Arbeiter nicht besonders gross, namentlich für denjenigen, der die Photographie in irgend einem Gebiete schon beherrscht: jedoch muss der mikrophotographische Apparat ein vollkommener sein. Damit ist nicht gerade eine grosse und kostspielige Einrichtung gemeint, sondern hauptsächlich eine vollkommene Anlage des Apparates, der namentlich 1. möglichst erschütterungsfrei und bequem aufgestellt, 2. vollkommen lichtdicht, 3. mit guten Linsensystemen ausgestattet und 4. mit genauen und bequemen Einstellvorrichtungen versehen sein muss.

Die mikrophotographischen Apparate.

Die heute gebräuchlichen mikrophotographischen Apparate bestehen im wesentlichen aus drei Haupttheilen: einem gewöhnlichen oder besonders für photographische Zwecke eingerichteten zusammengesetzten Mikroskope, den meist auf einer »optischen Bank« angeordneten, zur Beleuchtung dienenden Theilen und einer vor oder über dem Okulare des Mikroskopes angebrachten photographischen Kamera, welche sich zweckmässiger Weise bis zu bedeutender Länge (1—2 Meter) ausziehen lässt. Das Bild des in geeigneter Weise durch Sonnen- oder künstliches Licht beleuchteten Objektes wird durch das achromatische oder apochromatische Mikroskopobjektiv wie bei gewöhnlicher mikroskopischer Beobachtung im Mikroskoptubus (Okular) entworfen, und dieses reelle Bild wird erst weiter durch ein nach Art der gewöhnlichen photographischen Objektive wirkendes Linsensystem (s. unten: Projektionsokulare) auf die Einstellscheibe, beziehungsweise die photographische Platte in der Kamera (aufrecht, d. h. gleichgerichtet mit dem Objekte) projicirt. Das Bild mittels der gewöhnlichen Mikroskopobjektive direkt in grössere Entfernung zu entwerfen, ist theoretisch unrichtig, da die Objektive nur für die der normalen Tubuslänge entsprechende Distanz am vollkommensten korrigirt sind. Ebenso unrichtig ist es, zum Zwecke der Projektion des Bildes mit dem Objektive die gewöhnlichen Campanischen oder auch Kompensationsokulare (von diesen namentlich die schwächeren) zu verwenden. Immerhin wird von manchen auch mit solchen Anordnungen noch gearbeitet. Für schwache Vergrösserungen kommen eigene Objektive, ohne Okulare, zur Verwendung, welche entweder in den Tubus des Mikroskopes eingesetzt oder am vorderen Ende der Kamera angebracht werden; in letzterem Falle wird das Mikroskopstativ entfernt und das Präparat auf einem besonderen, grossen Objekttische fixirt.

Die mikrophotographischen Apparate lassen sich im allgemeinen in zwei Gruppen theilen, je nachdem die Anordnung des Mikroskopes und der Kamera vertikal oder horizontal ist, oder, besser gesagt, je nachdem sie vorwiegend für die eine oder die andere Anordnung eingerichtet sind; denn meist zieht man es heute vor, beide Anwendungsweisen zu ermöglichen. Im allgemeinen wird man, wo es nur überhaupt angeht, die horizontale An-

ordnung wegen ihrer grossen Bequemlichkeit, namentlich wegen der leichten Zugänglichkeit der Einstellscheibe, vorziehen. Aber für Präparate z. B., die in Flüssigkeiten suspendirt sind und in denen bei horizontaler Anordnung (also vertikal stehendem Objektträger) eine Senkung oder überhaupt Lageveränderung der Theilchen während der Aufnahme möglich ist, wird man, wenn nicht anders (z. B. durch Gelatineeinbettung) zu helfen ist, die vertikale Anordnung, mit horizontal liegendem Objektträger, wählen müssen. Sie ist sehr unbequem, namentlich bei grösserer Balglänge, die ganze Anordnung meist viel weniger gegen Erschütterungen gesichert, die Einstellung schwieriger zu bewerkstelligen; aus welchen Gründen sie heute wohl allgemein nur mehr im Nothfalle verwendet wird. Immerhin wird man bei ausgedehnterer mikrophotographischer Praxis nicht ganz auf sie verzichten können, ja es wird specielle Arbeiten geben, bei welchen man sich ihrer ausschliesslich wird bedienen müssen.

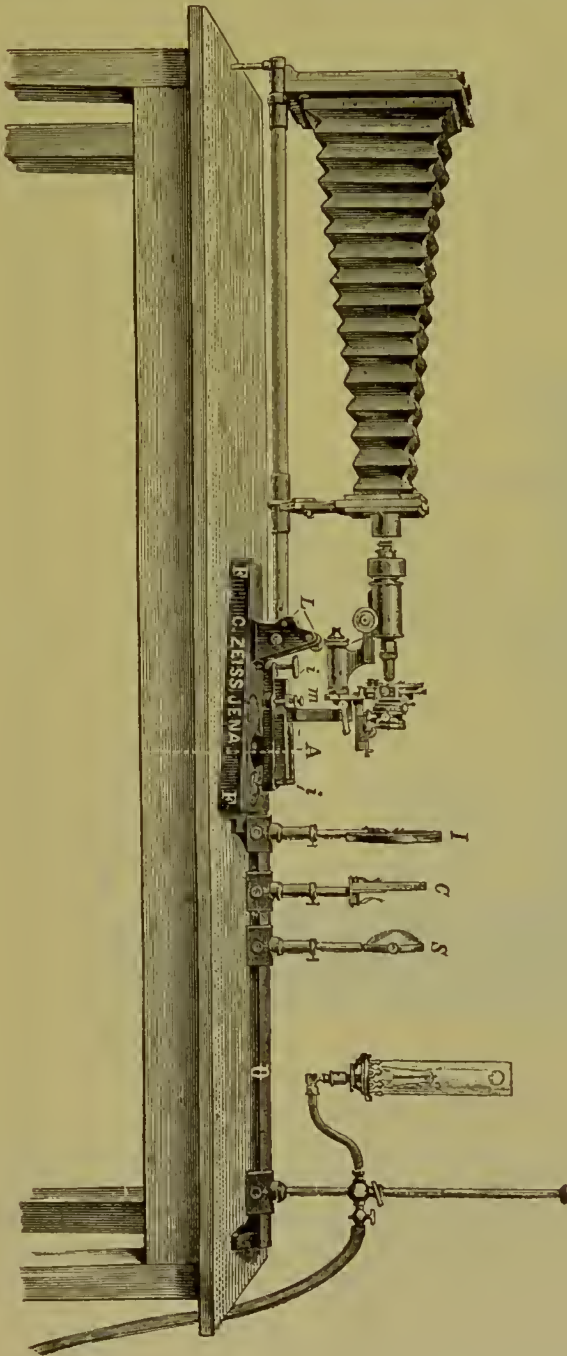


Fig. 68.

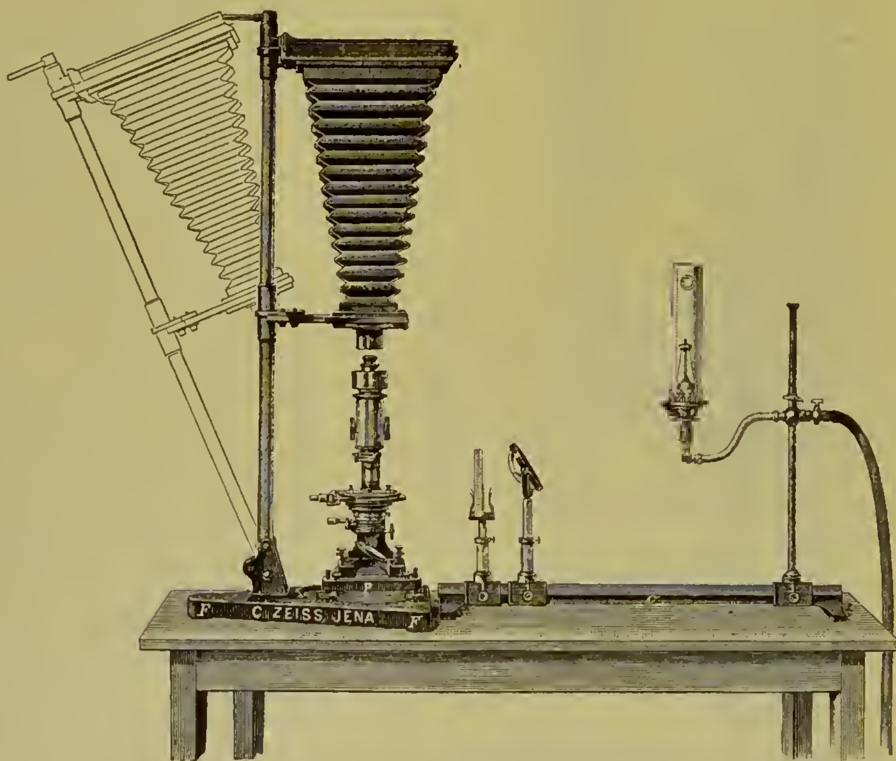
Bei der Unmöglichkeit, hier auch nur die hervorragenderen der ausserordentlich zahlreichen und mannigfachen Konstruktionen von mikrophotographischen Apparaten zu besprechen, sollen, nur als Beispiele zweckentsprechender Apparate, einmal die kleine Horizontal-Vertikal-Kamera und dann der grosse mikrophotographische Apparat aus den bestbekannten Werkstätten C. Zeiss in Jena, beide ausgezeichnete und in der Praxis vielfach bewährte Apparate, kurz beschrieben werden.

Die Zeiss'sche Horizontal-Vertikal-Kamera, die, für horizontale wie vertikale Anordnung gleich gut geeignet, eine der einfachsten und doch vielseitig verwendbaren Typen mikrophotographischer Apparate repräsentirt, ist in der obigen Fig. 68 in liegender Anordnung, in Fig. 69 in aufrechter Stellung sammt Mikroskop und Beleuchtungsapparat dargestellt.

Auf der dreieckigen Fundamentplatte *FF* ist die um die vertikale Axe *A* (die mit der optischen Axe des aufrecht stehenden Mikroskopes zusammenfällt) drehbare und mittels dreier Justirschrauben *ii* in ihrer Höhe

und Neigung verstellbare Fussplatte *P* für das Mikroskop angebracht, dessen Fuss mittels des Metallbügels *m* durch zwei Schrauben an der Fussplatte fixirt wird. Die für Platten bis zu 21×21 Cm. eingerichtete und auf 90, bezw. 70 Cm. (bei vertikaler Anordnung) ausziehbare Kamera ist an der mit Centimetertheilung versehenen Führungsstange verschiebbar und in jeder Stellung feststellbar angebracht. Die Führungsstange kann in dem Charniere bei *L* aufgestellt und umgelegt und in drei Stellungen, der horizontalen, der vertikalen und unter 45° Neigung durch einem bei *L* einzusteckenden Stift festgestellt werden. Die Verbindung zwischen Kamera und Mikroskop wird wie beim grossen mikrophotographischen Apparate durch eine lichtdichte, berührungslose Manchette hergestellt (s. unten, Fig. 72). Der Balg ist am Kassettentheile aufklappbar, um das auf der Mattscheibe einzustellende Bild vom Mikroskope her beobachten zu können. Vor dem Fundamente und in der Richtung der Axe von Mikroskop und Kamera bei horizontaler An-

Fig. 69.



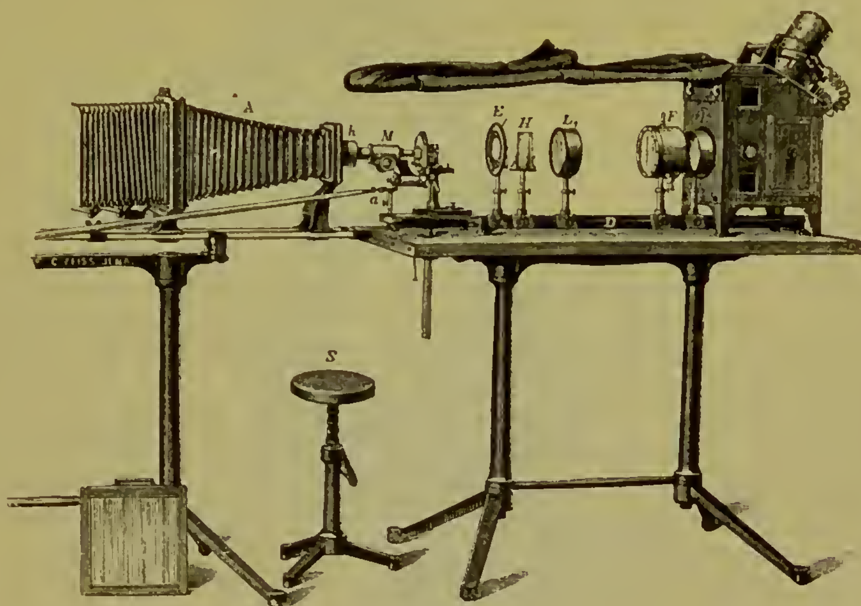
ordnung ist eine optische Bank *O* angebracht, welche die Lichtquelle, bei diesem Apparate gewöhnlich eine Auerlampe, die Sammellinse *S*, die Lichtfilterküvette *C* und die grosse Irisblende *I* auf besonderen, in der Höhe verstellbaren und auf der optischen Bank verschiebbaren Ständern trägt. Bei vertikaler Anordnung kommt der Spiegel des Mikroskopes in Verwendung.

Die Aufstellung der einzelnen Theile der Einrichtung und des Mikroskopes bei horizontaler und vertikaler Anordnung ist aus den beiden Figuren ohne weiteres ersichtlich. Die Einstellung des Präparates erfolgt zunächst im Mikroskope, bei der horizontalen Anordnung nach Zurückrücken der Kamera, bei der vertikalen nach Umlegung der Kamera in die 45°-Stellung. Die Horizontal-Vertikalkamera muss natürlich auf einem soliden, möglichst erschütterungsfreien Arbeitstische aufgestellt sein. —

Eine grundlegende Einrichtung des in der neueren Ausführung ausschliesslich für horizontale Anordnung der Kamera eingerichteten grossen

mikrophotographischen Apparates von Zeiss ist die vollständige Trennung der Kamera von dem Projektionstische, auf welchem das Mikroskop mit den Beleuchtungsvorrichtungen montirt ist. Der ganze Apparat zerfällt dadurch in zwei Theile, welche auf getrennten Tischen oder Eisenstativen angeordnet sind; erst bei der Einstellung zur Aufnahme wird die Kamera an das Mikroskop herangerückt und die lichtdichte Verbindung ohne gegenseitige Berührung hergestellt (s. unten). Durch diese Einrichtung sind zwei ausserordentliche Vortheile für den praktischen Arbeiter erreicht: erstens das vollständig bequeme Arbeiten und Einstellen des Präparates am Mikroskope bei abgerückter Kamera, und zweitens die vollständige Unabhängigkeit der Einstellung des Mikroskopes von den Erschütterungen, die die Kamera beim Wechseln der Einstellscheiben und beim Einsetzen und Oeffnen der Kassetten erleidet, ein namentlich bei höheren Vergrösserungen hoch zu veranschlagender Vortheil. Endlich wird noch als Vortheil dieser Anordnung die Möglichkeit angeführt, den Apparat nach Entfernung der Kamera direkt zur Projektion verwenden zu können.

Fig. 70.



Die Aufstellung des grossen mikrophotographischen Apparates erfolgt — möglichst erschütterungsfrei —, wenn man die in Fig. 70 dargestellte, äusserst bequeme, weil vollständig freie und von allen Seiten zugängliche Aufstellung des Apparates auf gusseisernen Gestellen wählen kann, am besten in einem ebenerdigen verdunkelbaren Zimmer, welches möglichst von der Strasse abgelegen ist und im Nothfalle zugleich als Dunkelkammer zu verwenden ist. Wenn mit Sonnenlicht gearbeitet werden soll, ist es sonnseitig zu wählen. Das Zweckmässigste für den mikrophotographischen Apparat wäre freilich eine erschütterungsfreie Aufstellung nach Art der für Galvanometer üblichen, doch wird sich dies selten durchführen lassen; Zettnow stellt die Füsse der Gusseisengestelle auf dicke Filzunterlagen. Steht kein geeignetes Lokal für die erwähnte Art der Aufstellung zur Verfügung, so ist es am besten, in einem sonst verfügbaren Zimmer an einer Hauptmauer des Gebäudes in passender Entfernung von einander, unter Vermeidung von Holzkonstruktion, zwei starke Wandkonsoltische anzubringen, auf welchen (nach Frosch) einerseits die Kamera ohne Fussgestell, andererseits optische Bank mit Beleuchtungsapparat und Mikro-

skop genau aufmontirt werden. Die Höhe der optischen Axe der ganzen Zusammenstellung über dem Fussboden betrage 116 Cm., der Abstand des vorderen Endes des ganz zurückgeschobenen Eisenrahmens, auf dem die Kamera verschiebbar angebracht ist, vom Projektionstische etwa 40 Cm. Die Einrichtung und Zusammenstellung des Apparates in der gewöhnlichen Anordnung ist in den Hauptheilen aus Fig. 70 ersichtlich. Dieselbe stellt die specielle Einrichtung für die Verwendung von elektrischem Bogenlicht dar. Rechts ist der Projektionstisch mit der SCHUCKERT'schen Projektionslampe, der optischen Bank *D* und dem Mikroskope *M*, links der vordere Theil der im ganzen auf 150 Cm. ausziehbaren Kamera *A* dargestellt, welche zur Aufnahme an das Mikroskop herangeschoben und bei *h* in lichtdichte Verbindung mit demselben gebracht erscheint.

Auf der optischen Bank sind auf besonderen verschiebbaren und in der Höhe verstellbaren Ständern (bei der Einrichtung für Bogenlicht) zunächst knapp vor der Projektionslampe das Linsensystem *L*, welches die von der Bogenlampe kommenden Lichtstrahlen parallel macht, dann die 6,5 Cm. dicke Wasserkammer *F* zur Absorption der dunklen Wärmestrahlen, die Sammellinse L_1, deren Brennpunkt etwas vor dem ABBE'schen Beleuchtungsapparate des Mikroskopes eingestellt wird, der Küvettenständer *H* zur Aufnahme einer oder zweier Lichtfilterküvetten (s. später unter Lichtfilter) und die grosse Irisblendung *E* aufgestellt. Die Fassung der Irisblendung, die sich bis auf 10 Cm. öffnen lässt, trägt zwei Federklammern zum Festhalten von grösseren Präparaten, die ohne Mikroskop mit schwachen, am vorderen Kameraende anzubringenden Objektiven aufgenommen werden sollen; ferner können hier auch Farbgläser oder Mattscheiben für besondere Beleuchtungszwecke eingeschoben werden. Diese Irisblendung, welche besonders auch zur Centrirung des ganzen Apparates dient, ist endlich zweckmässig mit mikrometrischer Verschiebung in der Richtung der optischen Axe eingerichtet, zur feinen Einstellung darauf befestigter Präparate bei schwachen Vergrösserungen.

Das Mikroskop — als solches kann jedes grössere Stativ dienen, besonders geeignet ist jedoch das weiter unten zu beschreibende, besonders eingerichtete Stativ für Mikrophotographie — ist auf einer in der Höhe verstellbaren Fussplatte befestigt und kann darauf mittels zweier Stellschrauben ausgerichtet, sowie mittels einer Schlittenvorrichtung aus der optischen Axe des Apparates seitlich ausgerückt und wieder in die vorige Stellung zurückgeführt werden (vergl. Fig. 74). Ueber der optischen Bank sind in Fig. 70 noch die zurückgeschlagenen Gardinen der Abblendevorrichtung zu sehen, welche bei Projektionen herabgelassen werden, um alles Nebenlicht vom Projektionsschirm fernzuhalten; bei der Mikrophotographie werden sie gewöhnlich nicht verwendet.

Die grosse ZEISS'sche Kamera für Mikrophotographie besteht aus zwei Theilen, von denen der vordere für sich für Aufnahmen mit kurzer Balglänge bestimmt ist. Derselbe war bei den älteren Modellen zum Vertikalstellen eingerichtet; da sich jedoch diese Einrichtung nicht genügend stabil erwiesen hat, werden jetzt Aufnahmen bei vertikal stehendem Mikroskope und horizontaler Kamera durch ein über dem Okulare anzubringendes, mit Lichtverschlussmanchette versehenes total reflektirendes Prisma vermittelt. Beide Theile der Kamera sind auf dem mit Centimetertheilung versehenen eisernen Rahmen, der sie trägt und die Verschiebung gegen den Projektionstisch bis zu einem einstellbaren Sperrbacken ermöglicht, in allen Lagen und Längen einzustellen. Objektive von grosser Brennweite für schwache Vergrösserungen werden an kleinen Brettchen angebracht, welche an Stelle des den Lichtverschluss tragenden Brettchens am vorderen Kameraende eingeschoben werden können. Zur groben Einstellung dient eine gewöhnliche

feine Mattscheibe, zur feinen, mit der Einstelllupe auszuführenden, eine Spiegelglasplatte mit Diamantstrichkreuz. Die Platten-Doppelkassetten, welche wie die Einstellscheiben sowohl in den kurzen vorderen, als auch in den hinteren Theil der Kamera passen, reichen bis zu Plattengrössen von 24 × 24 Cm. und sind durch Einlegerahmen auf beliebige kleinere Platten (gewöhnlich 9 × 12 und 13 × 18 Cm.) einzurichten. Durch Blechblenden mit kreisrunden Ausschnitten von verschiedenen Durchmessern, die vor der Kassette in die Kamera einzulegen sind, kann das Bild in gewünschter

Fig. 71.



Grösse kreisrund begrenzt werden. Eine besondere Schiebekassette gestattet die Aufnahme von Expositionsskalen, zur Bestimmung der besten Expositionszeit, namentlich bei Verwendung orthochromatischer oder panchromatischer Platten. Die lichtempfindliche Platte wird dabei hinter einer spaltförmigen Blende verschoben und in nebeneinanderliegenden Streifen verschieden lang belichtet, wobei stets derselbe Abschnitt aus der Mitte des Objektes zur Abbildung gelangt. Auch für andere Zwecke (z. B. Mehrfachaufnahmen auf einer Platte) ist die Schiebekassette gelegentlich gut zu verwenden.

Das neue ZEISS'sche Stativ für Mikrophotographie und Projektion, Modell 1899, konstruirt von M. BERGER, zeigt gegenüber den älteren Stativen einen wesentlich neuen Bau des Obertheiles. Dasselbe ist in Fig. 71 dargestellt. Man sieht auf dem Untertheile den grossen drehbaren Objekttisch, der durch die beiden konaxialen Walzen *r* und *r'* in zwei auf einander senkrechten Richtungen, an zwei Skalen messbar, verschoben werden kann. Ueber dem Objekttische erhebt sich der neue Obertheil auf einer soliden, keinerlei Mechanismus enthaltenden Säule, die mit einer Handhabe zum Transporte des Instrumentes versehen ist; die grobe Einstellvorrichtung mittels Zahntrieb und die neuartige Mikrometereinrichtung sind vorne an dieser Säule angebracht. Die Mikrometereinrichtung wird vermittels der zu beiden Seiten vorragenden Walzen *W* gehandhabt, wobei die Drehung der Walze durch eine Schraube ohne Ende mittels Schneckenrades auf die im Vordertheile der Säule stehende Mikrometerschraube übertragen wird. Diese Einrichtung übertrifft die bisherige Mikrometerbewegung in verschiedenen Richtungen, namentlich auch in Bezug auf die Feinheit der Einstellung. Einer ganzen Umdrehung der Walze entspricht eine Hebung oder Senkung

Fig. 72.

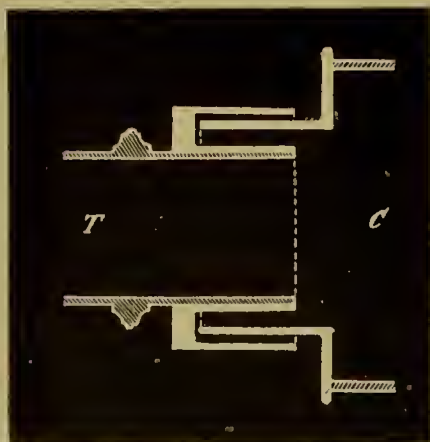
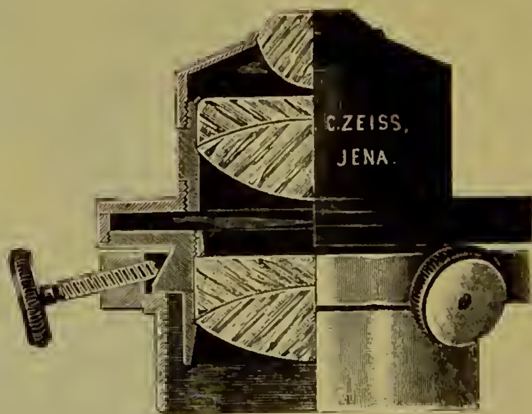


Fig. 73.



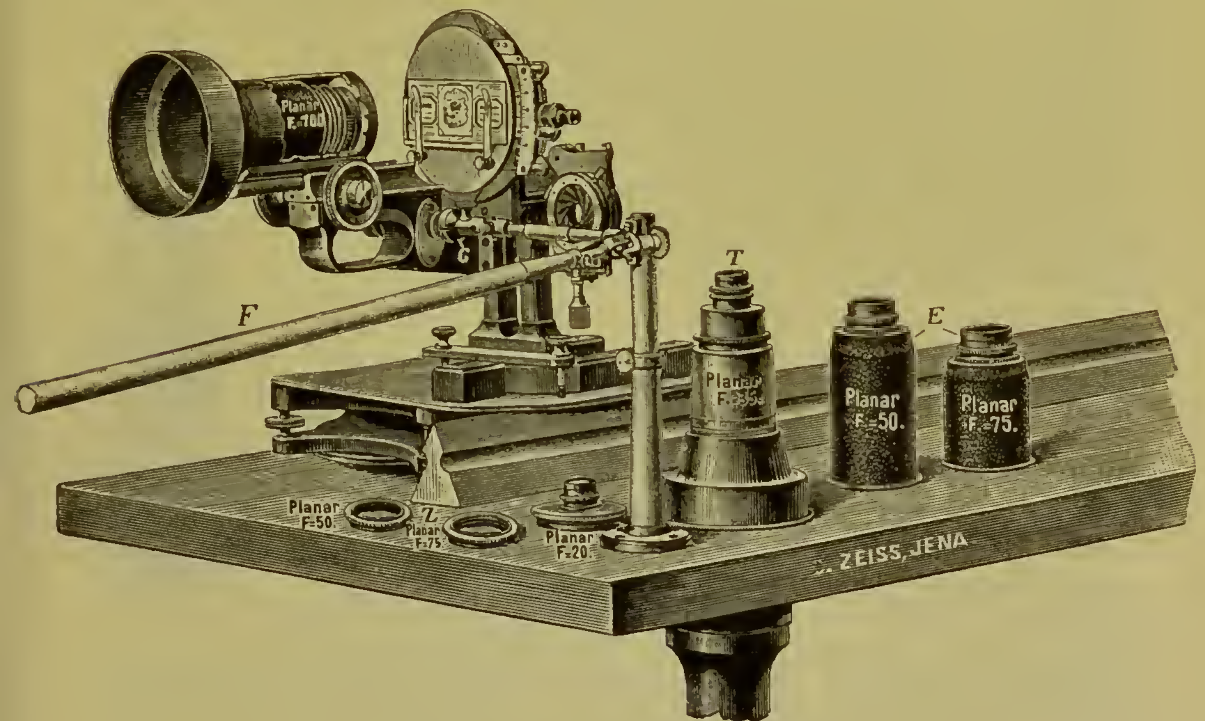
des Tubus um 0,04 Mm.; an einer Theilung der linken Walze können noch Höhenverschiebungen um 2 μ direkt abgelesen werden. Der Aluminiumtubus *T* besitzt 49 Mm. lichte Weite, so dass dadurch einerseits innere Reflexe vollständig ausgeschlossen sind, andererseits die zur Aufnahme grösserer Objekte dienenden Mikroplanare mit ihren Fassungen darin Aufnahme finden, ohne dass ihr weites Gesichtsfeld durch den Tubus beeinträchtigt wird.

Dadurch, dass die Mikrometereinrichtung knapp hinter die Grobbewegung verlegt wurde, ist eine beliebig grosse Ausladung des Tubus ohne Vermehrung der einseitigen Belastung der Mikrometereinrichtung erreicht worden: es können jetzt Objekte bis zu 15 Cm. Durchmesser vollständig auf dem Tische des Mikroskopes durchsucht werden. Aus der Figur ist weiter die Anbringung des Objektives mittels des wegen seiner vollkommenen Centrirung für photographische Zwecke besonders geeigneten Schlittenobjektivwechslers, ferner der Hülse für die lichtdichte Verbindung mit der Kamera am Okularende des Tubus zu ersehen. Diese Verbindung wird — ohne Berührung zwischen Kamera und Mikroskop — in einfacher Weise durch Einschieben eines am vorderen Ende der Kamera *C* (Fig. 72) angebrachten cylindrischen Ansatzrohres in die auf dem Tubus *T*

aufgesteckte oder bei verkürztem, weitem Tubus aufgeschraubte (vergl. Fig. 74) Lichtverschlussmanchette erreicht.

Unter dem Objekttische des Mikroskopes befindet sich der ABBE'sche Beleuchtungsapparat, in dessen Schiebhülse jedoch zweckmässig ein besonderer, für photographische Zwecke bestimmter centrirbarer achromatischer Kondensor (von 1,0 oder 1,30 Apertur) eingesetzt wird. Ein solcher von 1,0 Apertur ist in Fig. 73 dargestellt. Er enthält eine Irisblendung zwischen den Linsensystemen, so dass die untere Iris des Beleuchtungsapparates ganz geöffnet oder ausgeklappt werden kann. Die scharfe Einstellung des vom Kondensor entworfenen Bildes der Lichtquelle auf die Objektebene erfolgt mittels des Zahntriebes des Beleuchtungsapparates. Zur Entwerfung kleiner Bilder der Lichtquelle in die Objektebene kann man sich auch der gewöhnlichen schwächeren Objektivsysteme bedienen, welche zu diesem Zwecke mit einer besonderen Centrir-

Fig. 74.



vorrichtung in der Schiebhülse des Beleuchtungsapparates angebracht werden können. Zur Beleuchtung grösserer Präparate bei ganz schwachen Vergrösserungen wird eine einfache Sammellinse im Schiebrohr an Stelle des Kondensors eingesetzt.

Ein wichtiger Theil der mikrophotographischen Einrichtung ist endlich die Ferneinstellung der Mikrometerschraube des Mikroskopes von der Einstellplatte der Kamera aus. Hiezu wurde früher der einfache HOOKE-sche Schlüssel verwendet, wie er in Fig. 70, bei *a* in Verbindung mit der Mikrometerschraube des Mikroskopes, dargestellt ist. Bei der neuen Einrichtung des mikrophotographischen Statives erfolgt die Ferneinstellung mittels der in Fig. 74 dargestellten, leicht verständlichen Uebertragung *FG* auf die rechte Walze der Mikrometereinrichtung. Der Stab *F*, welcher von dem auf dem Projektionstische angebrachten Theile der Vorrichtung leicht abgenommen werden kann, wird neben der Kamera zu dem an der Einstellscheibe beobachtenden Arbeiter geleitet und am besten nahe seinem Ende auf ein besonderes Stativ oder eine Sessellehne aufgelegt,

so dass auch er von den Erschütterungen der Kamera unbeeinflusst bleibt. In Fig. 74 ist zugleich die Anbringung der für schwache Vergrösserungen in hervorragender Weise geeigneten Mikroplanare (s. unten) dargestellt, die nach Entfernung des Tubusauszuges zum Theile von unten an den Tubus geschraubt, zum Theile mittels eines Trichterstückes *T* und in dieses passender Zwischenringe *Z* von oben her eingeschraubt oder auch mit lederüberzogenen Ansatzröhren *E* in den Tubus eingeschoben werden.

Als Objektive werden in der Mikrophotographie wegen ihrer bedeutenden optischen Vorzüge — trotz der leider ziemlich starken Wölbung des Bildfeldes — die apochromatischen Objektivsysteme, in Verbindung mit Projektionsokularen, immer mehr und mehr verwendet. Mit vier Systemen von 16, 8, 3 (oder 4) und etwa 2 Mm. (homogene Immersion) Brennweite und einem oder zwei Projektionsokularen (»2« und »4«) findet man für alle Zwecke von etwa 50facher bis 2000facher Linearvergrösserung sein Auslangen. Das Princip der Projektionsokulare ist bereits pag. 839 erörtert worden. In Fig. 75 ist das Projektionsokular 2 in der Seitenansicht, im Längsschnitte und von oben her gesehen dargestellt. Es trägt unten die Kollektivlinse und darüber ein Diaphragma, vor welchem ein am oberen Ende angebrachtes, sorgfältig korrigirtes, nach Art eines photographischen Objektes wirkendes Linsensystem mittels eines steilen Schraubenganges verschiebbar und für verschiedene Balglängen einstellbar angebracht ist; die Einstellung erfolgt so, dass der Rand des Diaphragmas scharf auf der Einstellscheibe erscheint. Bei langem Balge wird also der Kopf des Projektionsokulares zurück-, bei kurzem vorgeschoben werden müssen. Die Einstellung für verschiedene Balglängen kann nach der an der Fassung angebrachten Theilung (Fig. 75 unten) ein- für allemal festgesetzt werden. Für schwache Vergrösserungen (etwa 10—50 linear) von Präparaten geringerer Ausdehnung, die noch über der Oeffnung des Objekttisches des mikrophotographischen Statives untergebracht werden können, kommen anstatt der früher von Zeiss konstruirten Projektionssysteme von 35 und 70 Mm. Brennweite gegenwärtig die seit 1897 konstruirten neuen lichtstarken photographischen Objektive in Verwendung, welche als Planare bezeichnet werden. Dieselben stellen aus vier getrennten Linsen bestehende, symmetrisch gebaute Objektivsysteme dar, welche sich durch relativ grosse Oeffnung und Lichtstärke, präcise Schärfenzeichnung und gute anastigmatische Bildebnung über ein Feld von grosser Winkelausdehnung auszeichnen. Für die eben angeführten Vergrösserungen dienen die Nummern 1—5 der mit I^a^ bezeichneten Serie von 20—100 Mm. Brennweite, welche im besonderen auch als Mikroplanare bezeichnet werden. Will man nur eines dieser Systeme anschaffen, so dürfte sich Nr. 2 oder 3 (35 oder 50 Mm. Brennweite) empfehlen. Auch von Leitz werden entsprechende, sehr leistungsfähige Objekte von 24—80 Mm. Brennweite hergestellt. Für ganz schwache Vergrösserungen (1—10 linear) ausgedehnter Präparate endlich, welche auf den Objekttisch der grossen Irisblendung aufgelegt werden und eine Fläche bis zu 70 Qcm. bedecken können, kommen als empfehlenswerthe Objektive, welche vermittels eines besonderen Schiebebrettchens leicht am vorderen Ende der Kamera eingesetzt werden können, vor allem die Planare höherer Brennweiten (160—300 Mm.), dann aber auch entsprechende Anastigmate (der Serien II^a^ oder VII^a^ von Zeiss), oder selbst gewöhnliche Aplanate in Betracht.

Fig. 75.



Als Lichtquellen werden für den mikrophotographischen Process gegenwärtig vornehmlich drei in ausgedehnterer Weise verwendet: Sonnenlicht, elektrisches Bogenlicht und Auerlicht. Das erste ist bei grosser Intensität billig, aber unverlässlich, das zweite bei grosser Intensität zuverlässig, aber kostspielig, das dritte billig und bequem, aber schwach. Für unsere Breiten, wo das Sonnenlicht, zu verschiedenen Tages- und Jahreszeiten von sehr wechselnder Intensität, an nicht sehr vielen Tagen des Jahres zur sicheren Verfügung steht, dürfte von den genannten drei Lichtquellen im allgemeinen in erster Linie das Bogenlicht, in zweiter das Auerlicht und erst in dritter Sonnenlicht zu empfehlen sein. Mit allen dreien sind schon vorzügliche Erfolge erzielt worden. Es ist kein Zweifel, dass noch eine ganze Reihe anderer Lichtquellen in der Mikrophotographie Verwendung finden kann. Früher wurde vielfach mit gewöhnlichem Petroleum- oder Gaslicht gearbeitet, Jeserich hat seinerzeit sehr das Kalklicht (oder Zirkonlicht), Fritsch Magnesiumlicht empfohlen, und Stein hat sich bemüht, dem elektrischen Glühlichte zur Geltung zu verhelfen; auch mit Acetylenlicht sind schon sehr befriedigende Versuche angestellt worden. Wir wollen uns jedoch hier nur kurz mit den erwähnten drei gebräuchlichsten Lichtquellen befassen. Abgesehen von den mikrophotographischen Momentaufnahmen, wo ihre Anwendung absolute Nothwendigkeit ist, sind die stärkeren Lichtquellen, elektrisches und Sonnenlicht für starke Vergrösserungen den schwachen (Auerlicht) entschieden vorzuziehen, nicht wegen der damit bedingten Verkürzung der Expositionszeit allein und an sich, sondern wegen der eben hiedurch weiter gewährleisteten Sicherheit und Unveränderlichkeit der Einstellung des Bildes auf der Platte während der Dauer der Exposition. Je schwächer die Vergrösserung ist, desto weniger fällt naturgemäss dieser Umstand ins Gewicht und desto leichter können schwächere Lichtquellen angewendet werden. Es muss betont werden, dass mit einem sonst vollkommenen Apparate unter Verwendung von Auerlicht bei stundenlanger Exposition zwar auch vortrefflich scharfe Bilder erhalten werden können, sobald mit grösster Vorsicht alle Erschütterungen des Apparates während der Aufnahme vermieden worden sind; allein dies hängt oft nicht nur vom Arbeiter, sondern auch von Zufällen ab.

Die Beleuchtung bei mikrophotographischen Aufnahmen mit gewöhnlichen oder apochromatischen Mikroskopobjektiven und Projektionsokular hat die Aufgabe, ein möglichst scharfes Bild der Lichtquelle in die Objektebene zu projiciren, welches Bild nicht wesentlich grösser sein soll als die zur Abbildung gelangende Stelle des Objektes. In etwas verschiedener Weise erfolgt die Beleuchtung bei ganz schwachen Vergrösserungen unter Verwendung der Mikroplanare, Planare oder Anastigmate. Der genannte Zweck der Beleuchtung bei stärkeren Vergrösserungen kann in hauptsächlich nach den verschiedenen Lichtquellen, aber auch nach deren direkter oder indirekter (mit Einschaltung einer Mattscheibe) Verwendung verschiedenen Weisen erreicht werden. Im nachstehenden sollen einige der gebräuchlichsten Anordnungen für die Beleuchtung mit den drei genannten Lichtquellen skizzirt werden.

A. Sonnenlicht. Dasselbe wird vermittels eines für die Polhöhe des Ortes eingestellten Uhrwerksheliostaten, der sich vor einem Fenster des Arbeitsraumes befindet, womöglich unmittelbar, sonst aber unter Vermittlung eines am Ende der optischen Bank auf besonderem Stative angebrachten einstellbaren Planspiegels in die Axe des mikrophotographischen Apparates geleitet; mittels einer nahe dem Ende der optischen Bank angebrachten einfachen Bikonvexlinse von cirka 70 Cm. Brennweite wird ein Sonnenbildchen nahe in die Blendenebene des Kondensors entworfen. Von

diesem Bildchen erst entwirft der Kondensor oder das an Stelle desselben verwendete Objektivsystem ein zweites Sonnenbildchen in die Objektebene. Bei starken Vergrösserungen reicht auch das ohne Zuhilfenahme dieser Sammellinse direkt vom Kondensor entworfene Sonnenbildchen zur vollen Beleuchtung des Gesichtsfeldes aus.

B. Bogenlicht. Als Lichtquellen dieser Art sind nur Gleichstrom-Bogenlampen in Gehäuse zu empfehlen, am zweckmässigsten in der jetzt für Projektionslampen üblichen Form (vergl. Fig. 70) mit unter 40° gegen die Vertikale geneigten Kohlen, welche die grösste Ausnützung der Lichtstärke des positiven Kraters ermöglichen. Wird die Lampe nur für Mikrophotographie verwendet, so ist eine solche geringerer Stärke (bis etwa 20 Ampère) nicht nur hinreichend, sondern wegen der geringeren Gefahr der Erhitzung der Präparate sogar einer stärkeren vorzuziehen. Die Anordnung der Beleuchtungs- und Kühlanlage für Bogenlicht ist schon pag. 843 besprochen worden. Zur Schonung des Auges und der Präparate wird die Einstellung bei Sonnen- und Bogenlicht unter Vorschaltung von Rauchgläsern und Mattscheiben, weniger vortheilhaft Farbgläsern oder Lichtfiltern, vorgenommen.

C. Auerlicht. Die Anordnung der Beleuchtungsvorrichtung für Gasglühlicht ist im allgemeinen aus Fig. 68 (und 69) ersichtlich. Es ist klar, dass bei Verwendung dieser Lichtquelle kein scharfes Bild des Glühstrumpfes in die Objektebene entworfen werden darf. Es wird daher vermittels einer Plankonvexlinse von ca. 10 Cm. Brennweite ein unscharfes Bild der Lichtquelle in die Ebene der am vorderen Ende der optischen Bank aufgestellten grossen Iris entworfen (das scharfe Bild des Glühstrumpfes liegt am besten zwischen Iris und Kondensor) und durch Verengen der Iris in beliebiger Grösse begrenzt. Von dieser Oeffnung der Iris wird nun durch Einstellung des Kondensors ein scharfes Bild in die Objektebene entworfen, das durch Erweitern oder Verengen der Iris leicht auf die gewünschte Grösse gebracht werden kann.

D. Beleuchtung bei schwachen Vergrösserungen. Diese erfolgt am besten und einfachsten unter Vermittelung einer durch die verwendete Lichtquelle direkt oder mittels der entsprechenden Linsen (s. oben) diffus beleuchteten Mattscheibe, welche entweder auf dem Objekttische der grossen Iris angebracht oder zwischen Lichtquelle und Iris eingeschaltet wird. Bei Verwendung der Mikroplanare oder ihnen entsprechender schwacher Objektive wird in die Schiebhülse des Beleuchtungsapparates anstatt des centrirbaren Kondensors die pag. 846 erwähnte einfache Sammellinse eingesetzt. Das Bild der Lichtquelle (Iris) wird in diesem Falle durch Verschieben dieser Sammellinse scharf in die Mitte des Objektives entworfen.

Von grosser Wichtigkeit für die Erzielung guter Ergebnisse in der Mikrophotographie ist die möglichst vollkommene Centrirung sämmtlicher Theile des Apparates. Von ihr hängt nicht nur die Gleichmässigkeit der Beleuchtung, sondern auch die Reinheit und Schärfe des Bildes wesentlich ab. Bei der Centrirung, die übrigens in verschiedenen Weisen vorgenommen werden kann — nachstehend nur ein Beispiel — muss zunächst von der gegebenen Höhe der Axe der Kamera ausgegangen und das Mikroskop einmal in der Höhe mit der Kamera gleich, parallel und horizontal eingestellt werden. Hierauf wird der centrirbare Kondensor nach der unteren (weiter unbenützten) Iris des Beleuchtungsapparates centrirt, indem deren Bild durch Senken des Kondensors in die Objektebene entworfen und mit einem schwachen System (z. B. Obj. 16 Mm, Komp.-Oc. 2) beobachtet wird. Drittens ist nun das Mikroskop mit den auf der optischen Bank aufgestellten Theilen und der Lichtquelle zu centriren. Dies kann in ziemlich genauer Weise schon

mittels eines auf die Höhe der optischen Axe des Systemes eingestellten und auf der optischen Bank verschiebbaren metallenen oder hölzernen Winkelstückes geschehen, das der Reihe nach auf die Mittelpunkte der einzelnen Theile, von der unteren Iris des Beleuchtungsapparates bis zur Lichtquelle, eingestellt wird. Auf optischem Wege kann diese Centrirung kontrollirt und vervollständigt werden, indem durch Anrücken des Kondensors an den Objekttisch der Reihe nach die hinter einander auf der optischen Bank aufgestellten Theile in der Objektebene abgebildet und in der Höhe durch Verschieben in ihren Ständern, in der seitlichen Richtung durch kleine seitliche Verschiebungen des Mikroskopes eingestellt werden. Nachdem das Mikroskop in dieser Weise für die Folge mit den übrigen auf dem Projektionstische angebrachten Theilen centrirt ist, erübrigt nur noch die genauere Centrirung mit der Kamera in der seitlichen Richtung. Zu diesem Zwecke wird mit dem am Mikroskope befindlichen schwachen Systeme ein einfaches Präparat in der unten zu beschreibenden Weise mit Projektionsokular eingestellt und die weit (100 Cm. oder mehr) ausgezogene Kamera mit Mattscheibe, jedoch ohne davor eingesetzter Blechblendung, wie zur Aufnahme an das Mikroskop herangerückt. Man sieht nun, ob das Bild der Blendung des Projektionsokulares genau in die Mitte der Mattscheibe fällt, und kann durch seitliches Verrücken der Kamera nachhelfen, falls dies nicht der Fall ist. Stehen Kamera und Mikroskop mit Beleuchtungsvorrichtung einmal genau centrirt, so bleibt auch diese Centrirung für die Folge ungeändert.

Die Einstellung des Präparates und des Bildes zur Aufnahme ist der schwierigste Theil des ganzen mikrophotographischen Verfahrens, einmal weil sie sowohl volle Kenntniss des Präparates und der Intentionen des Autors, als auch volle Vertrautheit mit den Erfordernissen einer guten mikrophotographischen Aufnahme, namentlich in Bezug auf die Wahl der passendsten Vergrösserung und allfällig nothwendige Unterstützung oder Zurückdrängung dieser oder jener Detailwirkung, voraussetzt; dann, weil es selbst dem genauen Kenner seines Präparates oft schwer fällt, unter den für die gewöhnliche Beobachtung geeigneten Stellen die für die Photographie passendste auszuwählen; und endlich, weil die genaue Ferneinstellung der Mikrometerschraube von der Einstellscheibe aus bei etwas stärkeren Vergrösserungen, sobald nicht vorzüglich dünne Präparate (Schnitte) vorliegen, in Bezug auf die Auswahl der geeigetsten Einstellebene oft grosse Schwierigkeiten bereitet. Hier fördert erst Uebung und Erfahrung immer grössere Vollkommenheit. Im allgemeinen wird die Einstellung eines Präparates in folgender Weise vorgenommen: Zunächst erfolgt bei abgerückter Kamera die Einstellung im Mikroskope ganz ähnlich wie bei gewöhnlicher Beobachtung. Der Arbeiter sitzt dabei bequem zwischen Kamera und Projektionstisch vor dem horizontalen Tubus des Instrumentes. Dabei wird zweckmässig immer ein schwaches (Sucher-) Okular benützt und nicht vergessen, starkes Licht in der früher erwähnten Weise zu dämpfen. Nachdem die Einstellung einer passenden Stelle des Präparates in der gewünschten Lage erfolgt ist, bei den mit Korrektionsring versehenen Objektiven unter sorgfältiger Korrektion auf die Deckglasdicke, wird das Bild der Lichtquelle durch Heben oder Senken des Kondensors scharf in die Objektebene geworfen und genau centrirt; seine Grenzen sollen dabei etwas innerhalb des Randes der Blendungsöffnung des Sucherokulares liegen. Bei Verwendung von Auerlicht ist dies leicht durch Handhaben der grossen Iris zu erreichen; sonst müssen die Linsensysteme der Beleuchtungsvorrichtung entsprechend verschoben, eventuell andere Anordnungen zur Projektion des Bildes getroffen werden. Die Iris im centrirbaren Kondensor wird nun soweit verengt, als es die vollkommene Sichtbarkeit der darzustellenden feineren Struktur-

verhältnisse des Präparates überhaupt zulässt; bei Objekten, bei denen es sich nicht um feinere Strukturverhältnisse, sondern hauptsächlich um Kontour- und Farbenbilder handelt, also namentlich bei schwächeren Vergrösserungen, empfiehlt es sich sogar, die Blendung recht eng zu nehmen, natürlich keinesfalls so eng, dass etwa störende Diffraktionsränder merkbar werden. Nach Einstellung der Iris wird das für die gewählte Balglänge ausgezogene Projektionsokular an Stelle des Sucherokulares eingesetzt, die mit der Mattscheibe versehene, auf die bestimmte Länge eingestellte Kamera bis zur Berührung an die Lichtverschlussmanchette angerückt und darauf um etwa 1 Mm. zurückverschoben, so dass die Berührung aufgehoben und ein kleiner Spielraum für das Heben des Tubus freigegeben ist. Mittels des an dem Grundrahmen der Kamera einstellbaren Sperrbackens kann diese Stellung so fixirt werden, dass die Kamera zwar frei zurückgeschoben, aber immer nur bis zu demselben Punkte vorgeschoben werden kann. Sodann wird die Ferneinstellung der Mikrometerschraube des Mikroskopes hergerichtet, durch Handhaben derselben das Bild zunächst auf der Mattscheibe eingestellt und, wenn eine solche überhaupt benützt wird, die entsprechende, das Bild begrenzende Blendungsscheibe vor der Einstellscheibe eingesetzt. Hierauf wird die Mattscheibe gegen die Spiegelglasplatte vertauscht und nun, bei stärkeren Vergrösserungen unter öfterem Ausruhen und Probiren, mit übergehängtem Einstelltuche die Ferneinstellung mit Zuhilfenahme der Einstell-Lupe ausgeführt; diese Lupe ist ein- für allemal für das Auge des Arbeiters genau auf das Diamantstrichkreuz eingestellt. Beim Einstellen sitzt der Beobachter in bequemer Weise hinter der Einstellplatte, hinter oder neben (bei kurzem Balge) der Kamera. Es ist sehr zweckmässig, sich knapp vor dem Einsetzen der Kassette zur Aufnahme noch einmal davon zu überzeugen, dass die Einstellung wirklich unverändert geblieben ist.

Im Vorstehenden ist nur die Centrirung und Einstellung für die gewöhnliche Anordnung bei stärkeren Vergrösserungen beschrieben worden; das Verfahren bei schwachen Vergrösserungen ist in beiden Beziehungen viel einfacher und weniger heikel; es ergiebt sich ohne weiteres aus der sinngemässen Anwendung des Gesagten auf die geänderten Verhältnisse.

Bezüglich der Wahl der Vergrösserung gelte als Grundsatz, sich stets der niedrigsten Vergrösserung zu bedienen, bei welcher die darzustellenden Einzelheiten eines bestimmten Präparates im Bilde für ein normales Auge noch gut erkennbar sind. Eine und dieselbe Vergrösserung lässt sich nun sowohl mit Verwendung stärkerer Objektive und mit kurzem Balge, als auch mit schwächeren Objektiven und längerem Balge herstellen. In dieser Beziehung gelte als Regel, die Aufnahme immer mit dem schwächsten Objektive vorzunehmen, das die darzustellenden Strukturdetails noch vollkommen auflöst, und die stärkere Vergrösserung so lange, als es diese Rücksicht gestattet, durch Ausziehen des Balges zu erreichen. Drittens sollte endlich einmal mit der noch immer ziemlich verbreiteten Gewohnheit gebrochen werden, nicht nur Mikrophotogramme, sondern mikroskopische Abbildungen überhaupt bei ganz willkürlich — oder besser gesagt zufällig — hergestellten Vergrösserungen darzustellen. Es ist nur eine einmalige Arbeit von ein paar Stunden, die sich aber später durch vielfache Zeitersparniss reichlich lohnt, sich die Zusammenstellungen für eine bestimmte Serie von Vergrösserungen in runden Zahlen ein- für allemal auszumitteln und in einer Tabelle zu verzeichnen. In dieser werden die den einzelnen Vergrösserungen entsprechenden Objektive, Projektionsokulare (sammt Auszug) und Balglängen zusammengestellt, so dass darnach jederzeit die gewünschte Vergrösserung ohne weiteres wieder hergestellt werden kann. Die Tabelle kann weiter durch Eintragung der für eine bestimmte Beleuchtung, Zusammenstellung, Grösse des Beleuchtungskegels und Plattenart erforderlichen Ex-

positionszeiten ergänzt werden. So entnehme ich meinen Tabellen für Auerlicht und orthochromatische Lumièreplatten folgende drei Beispiele:

Vgr.	Obj.	P.-Oc.	(Auszug)	Balglänge	Anordnung	Abbe-Iris	Exp.-Zeit
25	35 Mm.	—	—	75,7 Cm.	B_2	—	80 Sek.
200	8 »	2	5	91,4 »	C	5 Mm.	70 »
1000	I. 2 »	2	$4^3/_4$	112,8 »	C	15 »	25 Min.

Eine Serie von 25—30 runden Vergrösserungen dürfte wohl für alle Zwecke des praktischen Mikrophotographen hinreichen. Als solche kann zum Beispiele nachstehende empfohlen werden:

Vgr. (linear)	
1, 2, 3, 4, 5, 6, 8	Planare
5, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 25, 30	Mikroplanare

Vgr.	
50, 75, 100, 150	16 Mm. P.-O. 2
200, 250, 300	8 Mm. P.-O. 2
300, 400, 500, 600	3 Mm. P.-O. 2
750, 1000	Imm. 2 Mm. P.-O. 2
1500, 2000	Imm. 2 Mm. P.-O. 4

Die Bestimmung der Vergrösserung kann in zweierlei Weisen vorgenommen werden: einmal, indem man die Bildvergrösserung V aus dem Abstande d des Bildes vom Projektionsokulare (in Mm.), der Brennweite des Objektives f und der Eigenvergrösserung (Nummer) v des Projektionsokulares rechnet, indem $V = \frac{d \cdot v}{f}$ ist. Darnach ergiebt sich d und damit die Balglänge für eine bestimmte Vergrösserung: $d = \frac{V}{v} . f$. Genauer und sicherer, namentlich für kleinere Bildabstände, bei denen obige Formel zu hohe Werthe liefert, erhält man die Vergrösserungen bei verschiedenen Zusammenstellungen durch Verwendung eines Objektivmikrometers. Dieses wird einfach als Präparat eingeschaltet, und sein Bild wird auf der Mattscheibe mit einem Millimeterlineale oder Glasmassstabe, am besten über eine grössere Zahl von Theilstrichen hin, nachgemessen. Ein Objektivmikrometer von 1 Mm., in 100 Theile getheilt, mit möglichst feiner Theilung, reicht zu solchen Bestimmungen für die mittleren und starken Vergrösserungen hin. Für schwache Vergrösserungen bedient man sich einer Millimeter- oder Halbmillimetertheilung auf Glas in ähnlicher Weise.

Die Herstellung bestimmter Vergrösserungen, z. B. der oben angeführten Serie zur Anlage der Vergrösserungstabelle, erfolgt in der Weise, dass man, während das Bild des Mikrometers auf der Mattscheibe eingestellt ist, den Balg entsprechend verkürzt oder verlängert, bis die bestimmte Vergrösserung erreicht ist; dabei ist selbstverständlich fortwährend die Mikrometerschraube des Mikroskopes zu handhaben. Ganz genau ist freilich auch diese zweite Methode der Bestimmung und Herstellung von Vergrösserungen nicht, indem dabei die verschiedene Dicke der Objektträger des verwendeten Mikrometers und anderer Präparate, sowie die Möglichkeit der bei verschiedenen Aufnahmen nicht ganz gleichen Einstellung des lichtdichten Verschlusses zwischen Mikroskop und Kamera nicht in Betracht gezogen sind. Bei ganz genauen Messungen, bei welchen zweckmässig jedes-

mal auch das Mikrometer aufgenommen wird, müssen auch diese Umstände berücksichtigt werden. Für die gewöhnlichen mikrophotographischen Zwecke ist jedoch die angeführte Vergrösserungsbestimmung meist völlig ausreichend. Man darf nicht vergessen, dass, wenn auch die Vergrösserung auf der Gelatineplatte nach deren Trocknen sozusagen fehlerlos erhalten bleibt, doch bei der weiteren Uebertragung des Bildes auf Papier in der gewöhnlichen Kopie oder im Reproduktionsverfahren vielfach Vergrösserungsfehler eingeführt werden, gegen welche die durch die beiden genannten Umstände bedingten leicht vernachlässigt werden können.

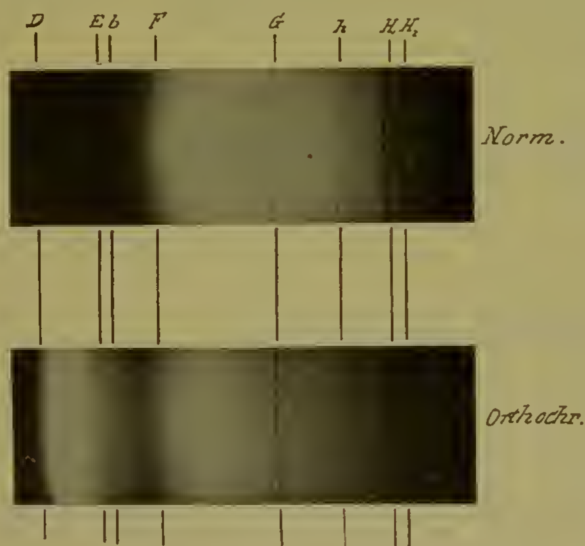
Ueber die Beurtheilung verschiedener Präparate bezüglich ihrer Eignung für die Mikrophotographie ist im allgemeinen schon in der Einleitung dieses Artikels und unter »Einstellung« die Rede gewesen. Im besonderen handelt es sich darum, sich für die Wahl einer bestimmten typischen Stelle und der Vergrösserung, die Art der Begrenzung des Beleuchtungskegels, die Hervorhebung von Strukturen, Kontouren oder bestimmten gefärbten Theilen des Objektes und schliesslich noch — nicht das leichteste — für die Einstellebene zu entscheiden. Es wird wohl nur bei ganz einfachen Präparaten und niedrigeren Vergrösserungen möglich sein, allen genannten Erfordernissen vollkommen Genüge zu leisten. Je höher die Vergrösserungen steigen und je weniger einfach das Präparat wird, desto mehr wird man dazu gedrängt, eine zweckmässige Vereinbarung zwischen diesen verschiedenen, einander zum Theile widerstreitenden Anforderungen zu treffen; in dem glücklichen Treffen dieser Vereinbarung liegt die Kunst des Mikrophotographen. Allgemeine Regeln lassen sich hier schwer aufstellen: die leitenden Gesichtspunkte sind bereits aus den früheren Abschnitten dieses Artikels zu entnehmen. Es erübrigt hier nur noch die Erörterung der Aufnahme von gefärbten Präparaten, welche in der Mikrophotographie gerade auch der thierischen Gewebe eine hervorragende Rolle spielt. Diese Erörterung muss aber zunächst von der Betrachtung der in der Mikrophotographie verwendeten photographischen Platten und der Einwirkung farbigen Lichtes auf dieselben, sowie der als »Lichtfilter« bezeichneten Farbstofflösungen (und Farbgläser) ausgehen, welche bei der Aufnahme gefärbter Objekte vielfach Verwendung finden.

Als photographische Platten werden in der Mikrophotographie zweckmässiger Weise — mit wenigen besonderen Ausnahmen — fast allgemein die orthochromatischen Platten benützt. Der Unterschied zwischen der Wirksamkeit einer gewöhnlichen und einer sogenannten orthochromatischen Platte wird am besten klar, wenn man das Spektrum des Tageslichtes auf beiden photographirt. In Fig. 76 (a. f. S.) sind nach zwei Aufnahmen mit einem gewöhnlichen Spektroskope die Positive zweier solcher Spektralaufnahmen annähernd wiedergegeben.

Man erkennt ohne weiteres den wesentlichen Unterschied: während auf der gewöhnlichen Platte erst von Blau angefangen gegen Violett und etwas darüber hinaus eine Einwirkung stattfindet, zeigt die orthochromatische Platte ein anderes, sehr starkes Helligkeitsmaximum in der auch für unser Auge hellsten Region des Spektrums, dem Gelb und Gelbgrün entsprechend. Diese Empfindlichkeit für bestimmte Farben erhalten die Bromsilberplatten bekanntlich nach der Entdeckung Vogel's durch den Zusatz bestimmter Farbstoffe zur Emulsion, und es können durch verschiedene solche Zusätze verschieden farbenempfindliche Platten hergestellt werden. Die gewöhnlich als orthochromatische Platten bezeichneten sind solche der Art, wie eine für unsere Spektralaufnahme verwendet worden ist, das heisst sie besitzen ausser der Empfindlichkeit für blaue und violette Strahlen ein anderes Empfindlichkeitsmaximum für gelbes und grünes Licht zwischen den Fraunhofer'schen Linien *D* und *E*. Es sind dies meist mit

Eosin oder mit Erythrosin hergestellte Platten. Viel seltener überhaupt und auch in der Mikrophotographie werden anders sensibilisirte Platten (Cyanin, Chinolin, Jodgrün, Anilinviolett, Naphthalinroth u. a.) verwendet. Die neuerlich hergestellten sogenannten panchromatischen Platten würden sich gewiss auch für mikrophotographische Zwecke vorzüglich eignen; doch sind sie noch etwas heikler zu behandeln als gewöhnliche orthochromatische Platten. Lumière in Paris liefern ganz ausgezeichnete und lange unverändert haltbare orthochromatische Platten, und zwar Serie *A*, gelb-grün empfindlich (gewöhnlich in der Mikrophotographie verwendet), und Serie *B*, roth-gelb-empfindlich, weiters panchromatische Platten: roth-, gelb- und grün- (und natürlich auch blau-violett-) empfindlich. Perutz in München erzeugt die gleichfalls vorzüglichen Vogel-Obernetter'schen haltbaren Silbereosinplatten (gelb-grün-empfindlich, siehe die Spektralaufnahme Fig. 76). Auch viele andere Plattenfabriken liefern orthochromatische Platten in verschiedener Güte und Haltbarkeit. Diese Platten finden bekanntlich gegenwärtig zu verschiedenen künstlerischen und technischen Zwecken ausgedehnte Verwendung.

Fig. 76.



Da die orthochromatischen Platten die Farben annähernd in den Helligkeitstönen wiedergeben, wie wir sie durch unser Auge empfinden, so kann ein vollkommen, das heisst etwas stärker als für die gewöhnliche Beobachtung (s. d. Einleitung d. Artikels) und wenn möglich nur einfach gefärbtes Präparat, ohne weiteres mit orthochromatischer Platte aufgenommen, ein sehr gutes Bild liefern. Dies muss jedoch nicht immer der Fall sein. Bei stärkeren Vergrösserungen kann die »Verdünnung« der Farbe durch die Vergrösserung so weit gehen, dass die gefärbten Theile sich im Photogramm nicht mehr in dem wünschenswerthen Kontraste von der Umgebung abheben, oder das Präparat kann von vorneherein etwas blass gefärbt sein, oder es handelt sich darum, irgendwelche in bestimmter Weise gefärbte Theile des Objektes wenn möglich stärker hervortreten zu lassen, als dies bei der gewöhnlichen Beobachtung geschieht, oder endlich umgekehrt darum, einzelne Theile oder die ganze Färbung, oder eine bestimmte Grund- oder Gegenfärbung im Bilde weniger hervortreten oder ganz verschwinden zu lassen. Für derartige Zwecke kommen die Lichtfilter zur Verwendung. Es sind dies in der Mikrophotographie bis in die jüngste Zeit Lösungen, welche in Küvetten mit planparallelen Wänden von gewöhnlich 1 Cm. Dicke, zwischen Lichtquelle und Präparat gebracht, nur einem bestimmten, begrenzten Bereiche der auf die photographische Platte wirksamen Bestandtheile des weissen Lichtes den Durchtritt gestatten, während das übrige absorbirt wird. Das älteste in der Mikrophotographie freilich zuerst zu von den heutigen verschiedenem Zwecke verwendete Lichtfilter war ein Blaufilter, eine koncentrirte Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd-Ammoniak; es diente hauptsächlich dazu, die unvollkommene chromatische Korrektion der älteren Objektive durch Verwendung annähernd monochromatischen und für

die gewöhnlichen photographischen Platten sehr wirksamen Lichtes unschädlich zu machen. Die Wirkung der Lichtfilter zu unseren heutigen, oben angeführten Zwecken ergiebt sich aus folgender einfachen Betrachtung: Nehmen wir beispielsweise eine Flüssigkeit als Lichtfilter, welche nur gelbgrünes Licht hindurchlässt, wie etwa das gleich näher zu besprechende ZETTNOWsche Filter, und ein Präparat, das mit einem Farbstoffe gefärbt ist, der sehr wenig oder gar kein gelbgrünes, dafür aber rothes und oranges, blaues und violettes Licht hindurchlässt, so wird offenbar, wenn das ursprünlich weisse Licht hinter einander das Filter und die gefärbten Theile des Präparates passirt hat, an den den gefärbten Partien entsprechenden Stellen überhaupt kein wirksames Licht mehr auf die Platte gelangen, während in den ungefärbten Partien das für die (orthochromatische) Platte recht wirksame gelbgrüne Licht des Filters passirt; ohne Filter ginge durch das gefärbte Präparat auch das von seiner Färbung hindurchgelassene blaue und violette Licht hindurch, welches nun vom Filter absorbirt wurde: das Präparat erscheint schwarz auf dem wirksamen Lichtgrunde, der Kontrast ist nach Möglichkeit erhöht, im Bilde erscheinen die gefärbten Partien schwarz auf weissem Grunde.
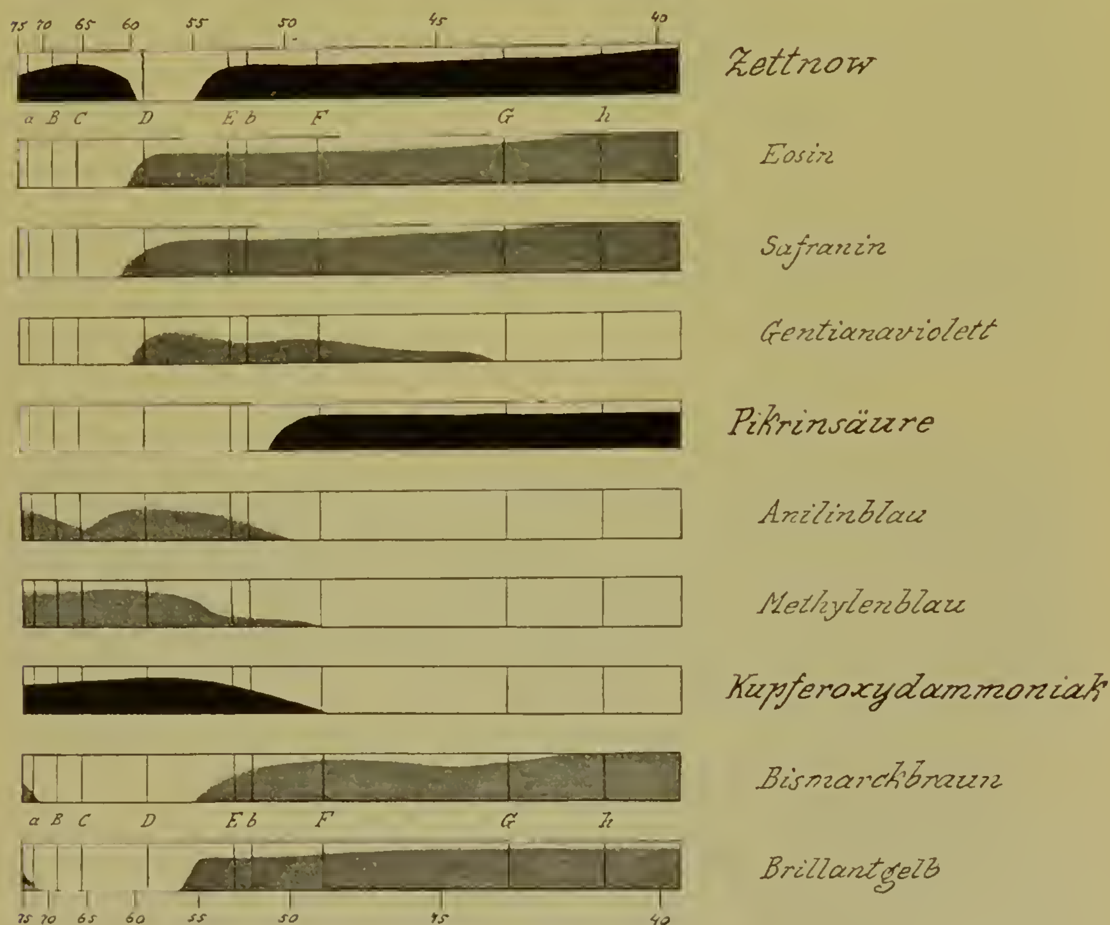
Nehmen wir andererseits ein z. B. mit Eosin etwas überfärbtes oder »gegengefärbtes« Präparat, dessen Grundfarbe in ihrer Wirkung in der Aufnahme gemildert werden soll, so wird man dies durch ein Filter erreichen, das hauptsächlich auch für die vom Eosin hindurchgelassenen Strahlen durchgängig ist, z. B. ein Pikrinsäurefilter; auf diese Art wird das Licht im ganzen Gesichtsfelde in der dem Eosin entsprechenden Weise gleichmässig geschwächt, ohne dass die Schwächung, die das Eosin in den gefärbten Partien hervorbringt, wesentlich verstärkt wird. Natürlich geht mit allen Proceduren mit Lichtfiltern wegen der stets damit verbundenen Verluste an wirksamen Strahlen eine Verlängerung der Expositionszeiten einher, die bei dunklen monochromatischen Filtern (ZETTNOW) das 4—8fache der gewöhnlichen Expositionszeit — und mehr — erreichen kann.

Um den allerhäufigsten Zweck der Verwendung von Lichtfiltern in der Mikrophotographie, nämlich möglichste Hervorhebung einer bestimmten Tinktion im Bilde, zu erreichen, ist es nothwendig, das spektroskopische Verhalten sowohl der verwendeten Lichtfilter als auch der betreffenden Tinktionen, und zwar dieser am gefärbten Präparate, nicht an der Farbstofflösung, die sich zuweilen wesentlich verschieden verhalten kann, genauer zu untersuchen. Hiezu dient in vortrefflicher Weise das Mikrospektroskop (s. d. betr. Artikel), und zwar gleich am Projektionstische verwendet. Die günstigste Kontrastwirkung der Kombination eines Farbstoffes mit einem Lichtfilter wird offenbar immer dann erzielt werden, wenn die Absorptionszonen (-Streifen) des Farbstoffes gerade an die Stellen der photographisch wirksamen Theile des Spektrums fallen, welche vom Lichtfilter hindurchgelassen werden und umgekehrt. In der nebenstehenden Fig. 77 sind die Absorptionen dreier Lichtfilter und einiger mit ihnen zweckmässig zu kombinirender Tinktionen nach GEBHARDT dargestellt. Die dunklen Felder geben die Ausdehnung und in ihren Höhen die ungefähre Stärke der Lichtabsorption in den verschiedenen Regionen des Spektrums vom rothen (links) bis zum violetten Ende an. Die Wellenlängen sind in der Figur nach dem ANGSTRÖMschen Massstabe eingetragen.

Das in der Mikrophotographie am meisten verwendete Filter ist das von ZETTNOW angegebene Grünfilter, das Kupfer-Chromfilter. Es wird am besten durch Lösung von 80 Grm. trockenem Kupfernitrat und 7 Grm. Chromsäure in 125 Ccm. destillirten Wassers hergestellt. In 1 Cm. dicker Schichte lässt es nur gelbes und grünes Licht zwischen 0,60 und 0,65 μ Wellenlänge hindurch, also gerade die Region des ersten Empfindlichkeits-

maximums der gewöhnlichen orthochromatischen Platten. Es kann selbstverständich nur mit solchen benützt werden, da es die für die gewöhnlichen nicht sensibilisirten Platten wirksamen blauen und violetten Strahlen sehr vollkommen absorbirt. Als Lichtfilter ist es gemäss seiner Absorption für alle Farben zu gebrauchen, welche eine starke Absorption im Gelb und Grün zeigen. Hierzu gehören viele rothe und violette Farbstoffe: in der untenstehenden Figur ist die Absorption von Eosin-, Safranin- und Gentianaviolettfärbungen verzeichnet. Auch für Methylviolett, Methylenblau, Fuchsin, Thionin u. a. m. ist das Zettnow'sche Filter gut geeignet. Ausgeschlossen sind nur die gelben und braunen Farbstoffe, welche für die von diesem Filter hindurchgelassene Spektralregion gleichfalls in hohem Grade durchlässig sind. Für blassere

Fig. 77.



Färbungen, auch für Doppelfärbungen (z. B. die verbreitete Hämatoxylin-Eosin-Färbung) genügt oft vollkommen das zur Hälfte mit Wasser verdünnte Zettnow'sche Filter in 1 Cm. dicker Schichte.

Als Gelbfilter ist koncentrirte wässerige Pikrinsäure-Lösung in 1 oder besser 2 Cm. dicker Schichte sehr verbreitet. Ihr Absorptionsspektrum ist in Fig. 10 verzeichnet. Für Anilinblau- und Methylenblaufärbungen ist, wie zu ersehen, auch das Zettnow'sche Filter geeignet; bei schwächeren solchen Färbungen ist es dem Pikrinsäurefilter vorzuziehen. Bei Hämatoxylin-, Indulin- sowie auch Karminfärbungen kann letzteres gute Dienste leisten, wenn man die starke Wirkung des Zettnow'schen Filters vermeiden will.

Das tiefblaue koncentrirte schwefelsaure Kupferoxyd-Ammoniak-Filter muss in 1 Cm. dicker Schichte angewendet werden, wenn gelbe oder

braune Farbstoffe (vergl. Fig. 77) auf orthochromatischer Platte aufgenommen werden sollen, um das erste Intensitätsmaximum dieser Platte aufzuheben. Auf gewöhnlichen photographischen Platten können solche Farbstoffe, z. B. Bismarckbraun, auch ohne jedes Filter gut aufgenommen werden.

Ausser diesen drei gebräuchlichsten ist noch eine grosse Zahl von Lichtfiltern von verschiedenen Seiten empfohlen und in Verwendung gezogen worden; es seien hier einige angeführt:

Rothe Lichtfilter:	Erythrosin (für grüne Färbungen; Monpillard). Karbolfuchsin (für Methylenblau; Tavel). Alaunkarmin (mit etwas Orangegelb oder Aesculinlösung; Gebhardt).
Gelbe » :	Kaliumbichromat (für blaue Färbungen; Monpillard). Kaliumchromat (für blauviolette Färbungen; Monpillard). Martiusgelb, Brillantgelb, Orangegelb (Gebhardt).
Grüne » :	Malachitgrün (kombinirt mit Pikrinsäure, ähnlich Zettnow; Gifford).
Blaue » :	Methylenblau (für Fuchsin; Tavel). Anilinblau (Gebhardt).
Violette » :	Methylviolett (concentrirt; Gifford). Methylviolett 6 B (mit Cyanin; Gebhardt). Jodfilter ($^1/_2$% in Chloroform, kombinirt mit Kupferoxydammoniak, für feinste Auflösungen; Zettnow).

Auch die Farbenfilter, welche Landolt bei seiner Methode der Bestimmung der Rotationsdispersion verwendet hat, dürften gelegentlich in der Mikrophotographie zu verwenden sein. Sie entsprechen folgenden Wellenlängen:

Roth	0,666 μ
Gelb	0,592 μ
Grün	0,533 μ
Cyanblau	0,488 μ
Indigoblau	0,448 μ

Anstatt der flüssigen Lichtfilter werden von manchen Seiten auch mit entsprechenden Lösungen gefärbte Gelatineplatten verwendet (z. B. neuerlich von Zettnow mit Tartrazin und Bromeosin gefärbte anstatt seines flüssigen Kupfer-Chromfilters).

Wahrscheinlich werden in nicht allzulanger Zeit sämmtliche flüssigen Farbenfilter durch die neuen, speciell zu Lichtfilterzwecken hergestellten Farbgläser verdrängt sein, welche seit kurzem von Schott und Gen. im Jenaer Glaswerke hergestellt werden und von Zsigmondy und Grebe auf ihr spektroskopisches Verhalten näher untersucht worden sind (s. d. Litteratur). Von denselben würden sich beispielsweise vorläufig als einfache Filter zu mikrophotographischen Zwecken empfehlen:

Chromglas, Fabr.-Nr. 414^{III}, 10 Mm. dick, dem »Zettnow« entsprechend, als gelbgrünes Filter,
Nickelglas, Fabr.-Nr. 440^{III}, 12 Mm. dick, als hellgelbbraunes Filter,
Kobaltglas, Fabr.-Nr. 424^{III}, 5 Mm. dick, oder
Blauviolettglas, Fabr.-Nr. 447^{III}, 5 Mm. dick, als blaues Filter.

Durch verschiedene Kombinationen der bisher dargestellten Gläser lassen sich bereits die mannigfachsten Sonderungen im Spectrum vornehmen. —

Wir gelangen nun endlich zur eigentlichen photographischen Aufnahme des mikroskopischen Präparates. Die orthochromatischen Platten, welche am besten sammt ihrer Originalumhüllung in einer lichtdichten Blechschachtel mit Falzdeckel aufbewahrt werden, werden in der vollständig lichtdichten Dunkelkammer, und zwar bei vollständiger Dunkelheit in die Doppelkassetten eingelegt, deren Schieber, um Verwechslungen zu vermeiden, mit fortlaufenden Nummern versehen sind. Die Gelatineseite der Platte ist leicht durch das Gefühl von der glatteren Glasseite zu unterscheiden, jedoch darf das Berühren der Gelatineschichte mit dem reinen Finger nur am Rande oder in einer Ecke der Platte erfolgen; sonst dürfen photographische Platten überhaupt nur an den Rändern erfasst werden. Nachdem die Platte mit einem feinen breiten Pinsel abgestaubt ist, wird sie mit der Gelatineseite nach unten in den schon vorher entsprechend eingebrachten Platteneinsatz der Kassette eingelegt.

Nachdem beide Abtheilungen der Kassette beschickt sind, wird diese sowie die Plattenschachtel geschlossen und die Dunkelkammer wieder erhellt. Auf dem Tische, auf welchem die Platten eingelegt und ausgehoben werden, sollen keinerlei nasse Manipulationen vorgenommen werden; auch sollen die Platten, Papiere u. s. w., falls die Dunkelkammer nicht sehr geräumig und ventilirbar ist, in einem anderen trockenen, dunklen Raume aufbewahrt werden. Nachdem man sich am mikrophotographischen Apparate noch einmal von der Richtigkeit der Einstellung überzeugt und die Expositionszeit festgesetzt hat, wird die Lichtquelle, am besten durch einen nahe der grossen Iris an zwei von der Zimmerdecke herabreichenden Fäden aufgehängten Karton von etwa 10 Cm. Seite, gegen das Mikroskop verdeckt, die Kassette statt der Einstellscheibe, zuerst mit der niedrigeren Nummer nach vorne, eingesetzt und der Schieber geöffnet, während die Kassette niedergehalten wird. Nunmehr ist jede Erschütterung auch der Kamera strenge zu vermeiden. Das Zimmer soll während der Aufnahme ausser von der zur Aufnahme verwendeten Lichtquelle von keiner anderen Seite helleres Licht erhalten. Der erwähnte hängende Lichtverschluss wird, wenn die Apparate auf einem gewöhnlichen Bretterfussboden stehen, am besten aus einiger Entfernung mittels eines Fadens zur Seite gezogen, womit die Exposition beginnt. Bei langdauernden Expositionen entfernt man sich am besten vorsichtig aus dem Zimmer. Nach Ablauf der festgesetzten Zeit wird die Lichtverschlussblende wieder herabgelassen und gleich darauf der Kassettenschieber geschlossen. Ganz zweckmässig ist es, nach langen Expositionen nun sofort nachzusehen, ob die Einstellung unverändert geblieben ist. Hat sich die Einstellung während der Exposition geändert, so ist die Platte verloren zu geben.

Die Hauptschwierigkeit bei der Aufnahme liegt, wie überhaupt in der Photographie, in der Wahl der richtigen Expositionszeit. Vor vielen anderen photographischen Verfahren hat man aber in der Mikrophotographie den unschätzbaren Vortheil, in fast allen Fällen die Aufnahme in Gemüthsruhe wiederholen zu können, falls die zuerst gewählte Expositionszeit unrichtig war. Bei einiger Uebung wird auf Grund des Verhaltens der ersten Aufnahme bei der Entwicklung die zweite Aufnahmszeit bereits sehr angenähert oder vollkommen richtig bemessen werden können; und es ist dringend zu empfehlen, wo es angeht, eine solche zweite oder selbst eine dritte Aufnahme auszuführen, statt durch allerhand spätere Manipulationen, die zusammengerechnet auch kaum weniger Zeit beanspruchen werden als die Wiederholung der Aufnahme, schlecht exponirte Platten und davon erhaltene Kopien zu »verbessern«. Was eine gut exponirte Platte bietet, wird man dadurch doch niemals erreichen können. Die Bestimmung der richtigen Expositionszeit, welche dem Anfänger oft Schwierigkeiten bereitet, lässt sich in der Mikrophotographie in verschiedener Weise ausführen und unter gewissen Bedingungen, wenn man über konstante Lichtquellen (Bogenlicht, Auerlicht) verfügt und einmal bestimmte, festgesetzte Anordnungen seines Apparates getroffen hat, ein- für allemal festsetzen (vergl. pag. 852). Recht gute Dienste leistet für die erste Orientirung der Goerz'sche Expositionszeitmesser, welcher an der matten Einstellscheibe über einer mittelhellen Stelle des Bildes bei übergehängtem Einstelltuche angelegt und gehandhabt wird. Bei diesem kleinen dosenförmigen Instrumente werden Gruppen von je einem durchscheinenden grösseren und drei darüber befindlichen ebensolchen ganz kleinen kreisförmigen Feldern an einer Drehscheibe eingestellt, bis bei einer der verschieden stark durchscheinenden Gruppen wohl noch der grosse, aber nicht mehr die kleinen Kreise sichtbar sind. Ein Zeiger giebt dabei auf einem Zifferblatte direkt die Expositionszeit in Sekunden oder Minuten an; ich nehme gewöhnlich die nächst höhere Angabe zur Grundlage für die Probe-

aufnahme. Das Instrument leistet, wenn man einmal etwas damit eingeübt ist, bei neuen Zusammenstellungen recht gute Dienste. Genauer kann die Expositionszeit mit einer gewöhnlichen Kassette bestimmt werden, auf deren Schieber man eine Centimetertheilung anbringt, so dass man die Platte centimeter- oder zweicentimeterweise mehr und mehr verdecken kann. Man exponirt zunächst die ganze Platte, z. B. 10 Sekunden, hierauf wird der Schieber 2 Cm. vor die Platte geschoben und man exponirt z. B. 3 Sekunden weiter, der Schieber wird wieder um 2 Cm. abwärts gerückt, man exponirt wieder 3 Sekunden, und so fort, bis endlich die ganze Platte durch den Schieber verdeckt und damit die Probeaufnahme beendet ist: man erhält so die verschiedenen über einander liegenden 2 Cm. breiten Streifen des Bildes verschieden lang belichtet, den obersten 10, den zweiten 13, weiter 16, 19 Sekunden u. s. w. Die Platte wird hierauf in genau bestimmter Weise entwickelt; nach dem Entwickeln und Fixiren wird derjenige Streifen aufgesucht, welcher die günstigsten Verhältnisse der Abbildung aufweist. Dies wird gewöhnlich der Fall sein, wenn in der Durchsicht der Grund fast ganz schwarz erscheint, während die Einzelheiten des Objektes sich möglichst hell und rein von dem dunklen Grunde abheben. Man kann nun, wenn die endgiltige zweite Aufnahme und die Entwicklung dieser unter genau denselben Bedingungen erfolgen, die Entwicklung vollständig im Dunkeln vornehmen und nach der bestimmten Zeit beenden. ohne die Platte auch nur dem rothen Lichte der Dunkelkammerlampe auszusetzen. Dies ist für orthochromatische Platten sehr vortheilhaft, für panchromatische unbedingtes Erforderniss. Bei Gelegenheit der Besichtigung der Probeaufnahme wird man auch, besser als nach der Beurtheilung des Präparates, darüber schlüssig werden können, ob nicht vielleicht doch die Anwendung eines Lichtfilters zur Hebung dieser oder jener Kontraste angezeigt erscheint. Noch besser als mit der gewöhnlichen Kassette gelingt es mit der bereits pag. 844 erwähnten Schiebekassette, verlässliche »Expositionsskalen« herzustellen, indem bei dieser immer dieselbe Stelle des Präparates zur Abbildung gelangt.

Hat man einmal die Expositionszeiten für seine bestimmten Zusammenstellungen, für eine bestimmte Grösse der Iris des Abbe'schen Beleuchtungsapparates ermittelt, so ergeben sich daraus leicht die Expositionszeiten für andere Oeffnungen der Iris, indem sich die Expositionszeiten umgekehrt wie die Quadrate der Durchmesser der Irisblendung verhalten; diese Durchmesser können an der Fassung der Iris abgelesen werden. Beträgt z. B. die einmal ermittelte Expositionszeit bei einer bestimmten Zusammenstellung für eine Iris von 5 Mm. 70 Sekunden, so ergiebt sich für eine Iris von 3 Mm. $E = \left(\frac{5}{3}\right)^2$ 70 Sec. = ca. $3^1/_4$ Min., oder für eine Iris von 6 Mm. $E = \left(\frac{5}{6}\right)^2$. 70 Sec. = ca. 49 Sec. Auf eine Sekunde auf oder ab kommt es bei längeren Expositionszeiten, und auf ein paar Minuten auf oder ab bei sehr grossen Expositionszeiten (Auerlicht, Lichtfilter, enge Blendungen) nicht so sehr an, wohl aber kann ein kleines zu viel oder zu wenig — namentlich letzteres — bei kurzen Expositionen schon sehr schädlich sein.

Mit der Aufnahme des Präparates ist das eigentliche mikrophotographische Verfahren zu Ende. Es folgen nun die gewöhnlichen photographischen Manipulationen, das Negativ- und das Positivverfahren, auf deren zum Theile äusserst verschiedenartige und mannigfache Einzelheiten einzugehen nicht Sache dieses Artikels ist. In dieser Beziehung muss jedenfalls ein photographisches Handbuch zu Rathe gezogen werden. Jedoch sollen der Vollständigkeit wegen im Anhange in Schlagworten und mit einigen Recepten ausgestattet wenigstens die Hauptgrundzüge des speciellen photographischen Verfahrens für unsere Zwecke vorgeführt werden.

Zuvor aber möge noch ein flüchtiger Blick auf die grosse Reihe von Aufnahmen besonderer Art geworfen werden, die den Mikrophotographen zwar nicht regelmässig beschäftigen, aber ihm gelegentlich unterkommen können. Er wird sich in solchen Fällen, sobald er einmal die normale mikrophotographische Technik einigermassen beherrscht, auch ohne besondere Anleitung in entsprechender Weise zurechtfinden. So lange diese Vorbedingung freilich nicht erfüllt ist, möge er sich von solchen Aufgaben fernhalten. Auch hüte man sich vor Künsteleien: Der Mikrophotograph muss immer bedenken, dass die meisten Nicht-Photographen sich schon in einem ganz gewöhnlichen, guten Mikrophotogramme schwer zurechtfinden, das etwas mehr als allereinfachste Verhältnisse darbietet, und es oft verurtheilen, ohne zu bedenken, dass sie erst lernen müssen, im Mikrophotogramme zu sehen.

Für die Anwendungen besonderer Beleuchtungsmethoden, schiefer Beleuchtung, Dunkelfeldbeleuchtung und Beleuchtung im auffallenden Lichte gilt im allgemeinen, dass solche dort verwendbar sind, wo sie auch für die gewöhnliche mikroskopische Beobachtung gute Dienste leisten. Mit der schiefen Beleuchtung sind bekanntlich durch die Mikrophotographie schon manche feinen Strukturverhältnisse (Diatomaceen, Geisselpräparate) aufgedeckt worden, die für das beobachtende Auge nicht mehr gut wahrnehmbar waren. Auch zu Darstellungen kleiner körperlicher Elemente (z. B. frischer Blutkörperchen) mit äusserst plastischer Wirkung ist die schiefe Beleuchtung mitunter gut zu gebrauchen. Die Beleuchtung mit auffallendem Lichte kann bei schwachen Objektiven in der alten Weise durch eine vor dem Mikroskope angebrachte Kondensorlinse mittels Auerlicht oder auch einer stärkeren Lichtquelle erfolgen. Das gewöhnlich weisse Präparat wird auf völlig schwarzem Grunde eingestellt; dies lässt sich am besten erreichen, indem man unter der Oeffnung des Objekttisches einen mehrere Centimeter tiefen, mit Boden versehenen und mit schwarzem Sammt ausgekleideten Hohlcylinder anbringt. Für stärkere Vergrösserungen müsste ein Vertikalilluminator oder ein Mikroskop für Beobachtungen in auffallendem Lichte benutzt werden.

Eine sehr zweckmässige und noch wenig verbreitete Verwendung kann der Mikrophotograph von seinem Apparate durch die Aufnahme von Präparaten machen, bei denen es sich um eine grössere Reihe von Messungen oder um Zählungen von mikroskopischen Objekten handelt. Beide Arbeiten sind am Mikrophotogramme viel bequemer auszuführen als unter dem Mikroskope. Für die Messung muss natürlich die Vergrösserung sehr genau hergestellt sein (s. oben unter »Vergrösserung«), und die Messung auf der Negativplatte vorgenommen werden. Zur Zählung wird die Aufnahme zweckmässig mit der Zeiss'schen Zählkammer bei aufrecht stehendem Mikroskope und mit möglichst kurzer Belichtung vorgenommen.

Vergleichsaufnahmen kleiner Objekte (z. B. einzelner Zellformen, verschiedener Blutarten, einzelner Schnitte einer Serie u. s. w.) können unter Verwendung der Schiebekassette in grösserer Anzahl auf einer Platte ausgeführt werden, indem man entweder den ganzen Spalt der Kassette benützt, oder aus diesem durch nach oben oder unten von der Mitte aufgeklebte Kartonblenden ein kleines rechteckiges, quadratisches oder kreisförmiges Fenster macht, hinter welchem (unter einmaligem Umkehren der Platte) bis zu 10 verschiedene Aufnahmen auf einer gewöhnlichen Platte vom Formate 9×12 Cm. vereinigt werden können; dieselben müssen wegen der gleichzeitigen Entwicklung natürlich alle unter genau denselben Verhältnissen ausgeführt sein.

Mikrophotographische Momentaufnahmen erfordern sehr starke Lichtquellen, mässige Vergrösserungen und einen Momentverschluss, welcher

am besten am vorderen Kamerarande angebracht ist und durch ein an seinem beweglichen Theile angebrachtes rechtwinkeliges Reflexionsprisma erlaubt, das Präparat bis zum Momente der Auslösung des Momentverschlusses zu beobachten, mit anderen Worten die Aufnahme erst in dem Momente vorzunehmen, wenn der aufzunehmende Vorgang im Präparate abläuft. Ist ein kontinuirlich ablaufender Vorgang aufzunehmen, bei welchen es auf den Zeitpunkt der Aufnahme nicht ankommt, so ist ein Schlitzverschluss knapp vor der Platte, bekanntlich einer der besten Momentverschlüsse, vorzuziehen. Wie bei allen Momentaufnahmen hat sich die Schnelligkeit des Verschlusses nach der Schnelligkeit der aufzunehmenden Bewegung zu richten; andererseits ist sie durch die Stärke der verfügbaren Beleuchtung begrenzt.

Aufnahmen im polarisirten Lichte und Spektrenaufnahmen werden bei der Untersuchung thierischer Gewebe wohl äusserst selten nothwendig sein; sie können mit Zuhilfenahme der entsprechenden Apparate (s. d. Artikel »Polarisationsmikroskop« und »Mikrospektroskop«) in ganz befriedigender Weise ausgeführt werden. Für Spektralaufnahmen soll jedenfalls Sonnenlicht verwendet werden.

Wirkliche stereoskopische Aufnahmen mikroskopischer Objekte können in äusserst vortheilhafter und namentlich bei embryologischen Objekten lohnender Weise bei schwächeren Vergrösserungen, wo sie ja wohl allein in Betracht kommen, ausgeführt werden, indem man die zwei Aufnahmen des Präparats in der Weise ausführt, dass der Objektträger einmal auf der rechten, dann auf der linken Seite des Objektes etwas gehoben wird. Dies kann durch einfaches Unterlegen eines entsprechend der gewünschten Tiefenwirkung dünner oder dicker (bis 5 Mm. und darüber) gewählten Holzklötzchens einmal an einem, dann an dem anderen Ende des Objektträgers, besser und bequemer unter Verwendung der Fritsch'schen Wippe erreicht werden. Natürlich hat dieses Verfahren nur bei Präparaten einen Zweck, die eine nennenswerthe Dickendimension besitzen. Man hat den körperlichen Eindruck, den dünnere mikroskopische Objekte beim Handhaben der Mikrometerschraube bei der gewöhnlichen mikroskopischen Beobachtung erzeugen, auch dadurch hervorzubringen versucht, dass man zwei Aufnahmen des Objektes, eine bei höherer, eine bei tieferer Einstellung ausgeführt hat, die dann in stereoskopischer Weise beobachtet werden. Der Eindruck mancher solcher Bilder ist übrigens nicht so schlecht, wie man von vorneherein glauben könnte.

Hiermit ist die Aufzählung der Aufnahmen besonderer Art, die sich auf mikrophotographischem Wege ausführen lassen, keineswegs erschöpft — namentlich im Gebiete der Lupenvergrösserungen (Planare) lässt sich noch vielerlei ausführen —, aber es wird, was bezweckt war, aus dem Gesagten ersichtlich sein, dass man sich seines Apparates zu mannigfachen besonderen Zwecken bedienen kann, indem man die jeweiligen Zusammenstellungen diesen einzelnen Zwecken in entsprechender Weise anpasst.

Anhang: Die photographischen Manipulationen.

A. Das Negativverfahren.

1. Entwickeln. Die Dunkelkammer ist für orthochromatische Platten mit rein rothem Lichte (Gebr. Putzler's Massivrubin, spektroskopisch geprüft) beleuchtet. Panchromatische Platten verlangen volle Dunkelheit, ebenso rothempfindliche, höchstens ist gegen Ende der Entwicklung ganz dunkles grünes Licht für diese erlaubt. Auch die gewöhnliche orthochromatische Platte ist möglichst vor dem rothen Lichte zu bewahren. Entwickler 80

bis 100 Ccm. für Format 13×18 Cm., 50 Ccm. für 9×12 Cm., jedesmal möglichst frisch bereitet, gut gemischt, 1—2 Minuten gestanden. Platte (Gelatine oben) plötzlich untertauchen, Schaukeln der Tasse!

Recept I: Eisenoxalat-Entwickler. Lösung a: 100 Grm. oxalsauren Kalis, 300 Ccm. destillirten Wassers. Lösung b: 100 Grm. reinen Eisenvitriols, 300 Ccm. destillirten Wassers, 6 Tropfen koncentrirter Schwefelsäure. (Lösung b nur cirka eine Woche gut haltbar.) Zum Gebrauche: drei Raumtheile a, ein Raumtheil b, Bromkaliumlösung (1 Grm. Bromkalium, 10 Ccm. Wasser) 4 Tropfen.

Recept II: Pyrogallol-Entwickler. Lösung a: 10 Grm. Pyrogallol, 1,5 Grm. Citronensäure, 25 Grm. Natriumsulfit, 100 Ccm. destillirten Wassers. Lösung b: 45 Grm. kohlensauren Kalis, 12,5 Grm. Natriumsulfat, 100 Ccm. destillirten Wassers. Zum Gebrauche: 100 Ccm. destillirten Wassers, 5 Ccm. von a, 5 Ccm. von b, 5 Tropfen Bromkali (wie oben).

Recept III: »Rodinal«-Entwickler (Paramidophenol). 5 Ccm. »Rodinal« (der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation, Berlin), 100 Ccm. destillirten Wassers, 10 Tropfen Bromkali (wie oben).

Weitere Entwickler: Metol, Hydrochinon, Eikonogen, Amidol, Glycin (für »Stand«-Entwicklung) u. a. m.

Die Entwicklung ist beendet, wenn der Grund des Bildes in der Durchsicht vollkommen dunkel erscheint und der Rand der belichteten Partie der Platte, sowie das Bild gröberer Strukturen von der Glasseite der Platte in der Aufsicht erkennbar durchscheint. Von sehr feinen Strukturen ist am Ende der Entwicklung in der Durchsicht und in der Aufsicht nur sehr wenig mehr zu bemerken. Die Entwicklungsdauer ist für verschiedene Plattensorten und Entwickler verschieden, bei den genannten (mit »Verzögerer«-Bromkali versetzten) Entwicklern beträgt sie etwa 5—8 Minuten. Sobald der unbelichtete Rand der Platte zu dunkeln beginnen sollte, muss die Entwicklung jedenfalls unterbrochen werden. Bei normaler Exposition kommen zuerst die höchsten Lichter zum Vorscheine und werden bald ganz schwarz, dann folgen die helleren, später die dunkleren Halbtöne, und das Bild bleibt lange in der Aufsicht erkennbar. Bei stärkerer »Ueber-Exposition« kommt das Bild äusserst schnell, verliert aber rasch die Details und schwärzt sich bald im ganzen Bereiche der Belichtung. Bei unterexponirten Platten erscheinen selbst die höchsten Lichter sehr spät, das ganze Bild kommt sehr langsam, greift nicht in die Tiefe der Platte und erreicht auch bei langer Entwicklung keine nennenswerthe Dichte; die wenigen Einzelheiten, die anfangs in der Aufsicht zu sehen waren, verflauen bei weiterer Entwicklung. Der Rodinal-Entwickler hat die Eigenthümlichkeit, dass das Bild sehr rasch, schon nach 20—30 Sekunden, erscheint, aber weiter erst allmählich durchgreift. Man entwickelt damit etwas stärker als mit anderen Entwicklern, da das Bild beim Fixiren merklich »zurückgeht«. Wie aus den angegebenen Recepten zu ersehen, zieht Verfasser für die Mikrophotographie eine geringe Ueberexposition und Entwicklung mit »Verzögerer« vor. Zu stark überexponirte Platten können durch Zusatz von viel Bromkali und Entwickeln in altem, schon gebrauchten Entwickler noch gerettet werden, unterexponirte Platten schiesst man am besten gleich aus. Viel wichtiger als die Wahl eines unter den vielen gebräuchlichen Entwicklern ist die gründliche Einarbeitung auf denselben.

2. Fixiren. Nach dem Entwickeln Waschen der Platte unter der Brause drei Minuten. Hierauf Einlegen ins Fixirbad.

Recept IV: Saures Fixirbad. 100 Grm. Fixirsalz (saures Fixirbad der Aktiengesellschaft f. Anilinfabrikation, Berlin; in Patronen zu 100 Grm.), 800 Ccm. Wasser. Fixiren im Dunklen bis die Platte ganz durchsichtig,

unter zeitweisem Schaukeln, 15 Minuten. Hiernach kann die Platte ans Licht genommen werden.

3. Waschen. Eine Stunde in fliessendem Wasser, unter der Brause oder im Plattenwässerkasten.

4. Trocknen. Langsam bei Zimmertemperatur auf dem Plattentrockengestelle an staubfreiem Orte 24 Stunden.

5. Aufbewahren. In Plattenschutzcouverts (transparent) mit fortlaufenden Nummern und Bezeichnung der Aufnahme.

6. Verstärkung. Für zu wenig dichte und zu wenig kontrastreiche Negative. Bei Tageslicht auszuführen. Die Platte muss wenigstens 48 Stunden trocken gelegen haben, die Gelatinschichte ganz rein und fettfrei sein. Platte rasch unterzutauchen und sofort mit Pinsel von etwa anhaftenden Luftblasen zu befreien.

Recept VI: Quecksilber-Verstärker. 2 Grm. Quecksilberchlorid (Sublimat), 2 Grm. Bromkalium, 100 Ccm. destillirten Wassers.

Recept VII: Natriumsulfitbad. 10 Grm. Natriumsulfit, 100 Ccm. Wasser, jedesmal frisch zu bereiten.

Die Platte kommt je nach dem gewünschten Grade der Verstärkung 1—5 Minuten in das Sublimatbad, welches fleissig geschaukelt wird. Darnach gutes Abspülen in Wasser eine halbe Minute. Einlegen ins Sulfitbad zehn Minuten. Schaukeln! Waschen in fliessendem Wasser 20 Minuten, Trocknen.

Recept VIII: Uran-Verstärker (von Kaiserling besonders empfohlen). Lösung a: 1 Grm. Urannitrat, 100 Ccm. destillirten Wassers. Lösung b: 1 Grm. rothen Blutlaugensalzes, 100 Ccm. destillirten Wassers.

Zum Gebrauche: 50 Ccm. von a, dazu 10 Ccm. Eisessig, hierauf dazu 50 Ccm. von b. Einweichen der Platte in Wasser zehn Minuten. Einlegen in den frisch gemischten Verstärker, Schaukeln, Verweilen 1—5 Minuten. Waschen in Wasser, bis dieses ohne Streifenbildung abläuft, nicht länger! (cirka 5—10 Minuten). Trocknen.

B. Das Positivverfahren.

a) Kopien auf Celloidinpapier (»Kurz, pensée«).

Einlegen in den Kopirrahmen bei gelbem Lichte, Belichtung Tageslicht oder direktes Sonnenlicht (5—10 Minuten, je nach Dichte der Platte). Das Bild geht im Goldfixirbade, in das es hierauf kommt, etwas zurück, also überkopiren!

Recept IX: Goldfixirbad. 10 Grm. Bleinitrat in 200 Grm. destillirten Wassers gelöst, wird unter Umrühren in: 160 Grm. Natriumhyposulfit in 640 Grm. Wasser gelöst, eingegossen, 48 Stunden stehen gelassen und filtrirt.

Zum Gebrauche: 75 Ccm. alten Goldbades, 25 Ccm. obigen Fixirbades, dazu 5—7 Ccm. 1%iger Goldchloridlösung, 10—20 Minuten, Waschen in fliessendem Wasser eine Stunde, trocknen erst zwischen Filtrirpapier, dann mit Nadeln aufgespannt.

b) Kopien auf Bromsilberpapier (»N. P. G.«).

Einlegen in den Kopirrahmen bei rothem Lichte. Belichtung 40 Cm. vor Argandbrenner 7—15 Sekunden. Entwicklung mit Rodinal (oder anderen Entwicklern).

Recept X: Rodinal für Bromsilberpapier. 2 Ccm. Rodinal, 100 Ccm. destillirten Wassers, 10 Tropfen Bromkali (1:10). Stets frisch gemischt, zwei Minuten gestanden. Dauer der Entwicklung 3—4 Minuten. Lieber kürzer exponiren und länger entwickeln! Waschen drei Minuten unter der Brause.

Fixiren in saurem Fixirbad (Recept IV) 20 Minuten, trocknen ein wenig zwischen glattem Filtrirpapier, weiter frei hängend.

c) Kopien auf EASTMANS »Dekko«-Papier »matt« oder »Glanz« (sehr empfehlenswerth).

Einlegen in den Kopirrahmen bei rothem Lichte. Belichtung 20 Cm. vom Argandbrenner 1—2 Minuten, bei mittlerem zerstreuten Tageslichte $^1/_4$—2 Sekunden, je nach Dichte der Platten. Entwicklung mit Rodinal (oder anderen Entwicklern).

Recept XI: $2^1/_2$ Ccm. Rodinal, 100 Ccm. destillirten Wassers, 4 Tropfen Bromkali (1:10). Stets frisch gemischt, zwei Minuten gestanden. Weiter wie N. P. G.-Papier.

d) Diapositive (Chlorbrom-Diapositivplatten von SCHATTERA).

Einlegen bei rothem Lichte. Belichtung 40 Cm. vom Argandbrenner 8—16 Sekunden, Entwicklung mit Rodinal (oder anderen Entwicklern) etwa drei Minuten: auch lieber kürzer exponiren und länger entwickeln.

Recept XII: $2^1/_2$ Ccm. Rodinal, 50 Ccm. destillirten Wassers, 8 Tropfen Bromkali (1:10). Frisch gemischt, zwei Minuten gestanden. Waschen drei Minuten unter der Brause. Fixiren in saurem Fixirbad 15 Minuten. Waschen drei Minuten unter der Brause. Einlegen in koncentrirte Alaunlösung auf zwei Minuten. Waschen in fliessendem Wasser 30 Minuten, Trocknen auf Plattentrockengestell 24 Stunden. Fassen mit Papiermaske, Deckplatte und Papierrändern. —

Zum Schlusse seien noch einige Worte über die für Mikrophotogramme zu wählenden Reproduktionsverfahren angeschlossen. In Bezug hierauf möge hervorgehoben werden, dass die Autotypie, namentlich im Texte, von der Reproduktion von Mikrophotogrammen ausgeschlossen ist. Diejenigen autotypischen Vervielfältigungen, welche noch einigermassen verwendbar wären, kommen kaum billiger zu stehen als Lichtdruck. Dieser wird heute fast allgemein für mikrophotographische Reproduktionen verwendet und leistet, von tüchtigen Anstalten, an denen wir keinen Mangel haben, ausgeführt, ganz Vortreffliches. Ein noch vorzüglicheres Verfahren, aber zugleich das theuerste von den hier angeführten, stellt die Heliogravüre dar; an der zweiten Eigenschaft wird ihre Anwendung meistens scheitern. Da es bei Mikrophotogrammen wohl meist nicht auf die Vertauschung von rechts und links ankommt, wird man für den Lichtdruck die abziehbaren Platten entbehren können. Für die Vervielfältigung durch den Lichtdruck wird vielfach empfohlen, weichen und zarten Negativen den Vorzug zu geben, wenn man nicht wünscht, dass das Lichtdruckbild sehr »hart« wird. Solche Negative, die aber dann wieder nur flaue Silberkopien geben, werden erzielt, indem man etwas überexponirt und die Entwicklung etwas abkürzt. Die »Härte« des Bildes wird aber wohl gerade in der Mikrophotographie meist kaum schaden!

Die beste Reproduktion bleibt aber, wie neuerlich wieder ZETTNOW hervorgehoben hat, immer die Photographie. Für kleine Auflagen kann man die photographische Vervielfältigung selbst besorgen oder durch einen geschickten Arbeiter oder Photographen besorgen lassen. Für grössere Auflagen übernehmen jetzt bereits grosse Anstalten, wie z. B. die Neue Photographische Gesellschaft in Steglitz-Berlin, die Vervielfältigung in jeder gewünschten Anzahl. Für Tafeln, auf welchen eine Reihe von mikrophotographischen Bildern vereinigt werden soll, empfiehlt ZETTNOW die Herstellung einer Tafel von guten, gleichmässig abgetönten Copien, von welcher ganzen Tafel dann in der betreffenden Anstalt ein neues, grosses Negativ aufgenommen wird, das zur Vervielfältigung dient. So bleiben die werth-

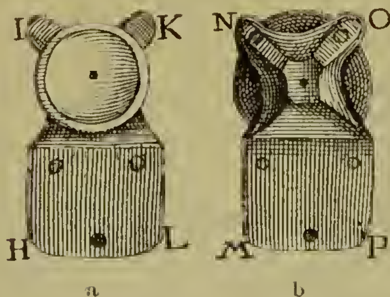
vollen Originalplatten in Sicherheit und die Schönheit der Tafeln gewinnt wesentlich.

Bezüglich der Ausstattung mikrophotographischer Reproduktionen ist zu empfehlen, in das Photogramm selbst keine Buchstabenbezeichnungen, Striche und dergleichen einzuzeichnen, sondern, wo dies erforderlich erscheint, eine (gepauste) einfache Skizze der wichtigsten Kontouren und der darzustellenden Einzelheiten beizugeben. Recht zweckmässig erscheint es oft, diese Skizze auf Pauspapier drucken und als genau über den Lichtdruck passendes Deckblatt heften zu lassen. Auf solche Weise wird auch das Verständniss derjenigen wesentlich gefördert, welche noch nicht geübt sind, komplicirtere mikrophotographische Bilder rasch aufzufassen.

Litteratur: R. Neuhauss (Lehrbuch der Mikrophotographie, Braunschweig, Bruhn), C. Kaiserling (Praktikum der wissenschaftlichen Photographie, Berlin, G. Schmidt, 1898), J. Choquet (La photomicrographie, histologique et bactériologique, Paris, Mendel, 1897), F. Monpillard (La microphotographie, Paris, Gauthier-Villars, 1899), L. Mathet (Traité pratique de photomicrographie, Paris, Mendel, 1900), R. Zeiss (Beschreibung und Gebrauchsanweisung des neuen Apparats für Mikrophotographie, Jena, C. Zeiss, 1888), M. Berger (Zeit. Instrument., Bd. 18, 1898), C. Fraenkel und R. Pfeiffer (Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde, Berlin, Hirschwald), W. Gebhardt (Die mikrophotographische Aufnahme gefärbter Präparate, München, Seitz und Schauer, 1899), H. Landolt (Ber. deutsch. chem. Ges. Bd. 27, 1895), R. Zsigmondy (Zeit. Instrument., Bd. 21, 1901), C. Grebe (ebenda, anschliessend), G. Marktanner-Turneretscher (Fortschritte auf dem Gebiete der Mikrophotographie und des Projektionswesens. Eder's Jahrbuch für Photographie. Halle, Knapp), J. M. Eder (Die Photographie mit Bromsilber-Gelatine, Handb. d. Photogr., III. Th., Halle, Knapp), J. M. Eder (Recepte und Tabellen für Photographie und Reproduktionstechnik, Halle, Knapp), E. Zettnow (Atlas zum Handb. d. pathogen. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann. Jena, G. Fischer, 1902). *Zoth,* Graz.

Mikroskop. Die ältesten »Mikroskope« datiren aus der Zeit des siebzehnten Jahrhunderts. Sie hatten eine Linse und waren höchst primitiv. Trotzdem waren die gesehenen Gegenstände, respektive das Gebiet derselben, ein ziemlich weites, fast ebensoweit wie heute. Bakterien wurden auch schon

Fig. 78.



Objekt- und Augenseite des Leeuwenhoek'schen Mikroskopes, welches die Person in Fig. 79 vor das Auge hält, mit Spiegelchen für auffallendes Licht (Leeuwenhoek's Spiegel).

Fig. 79.



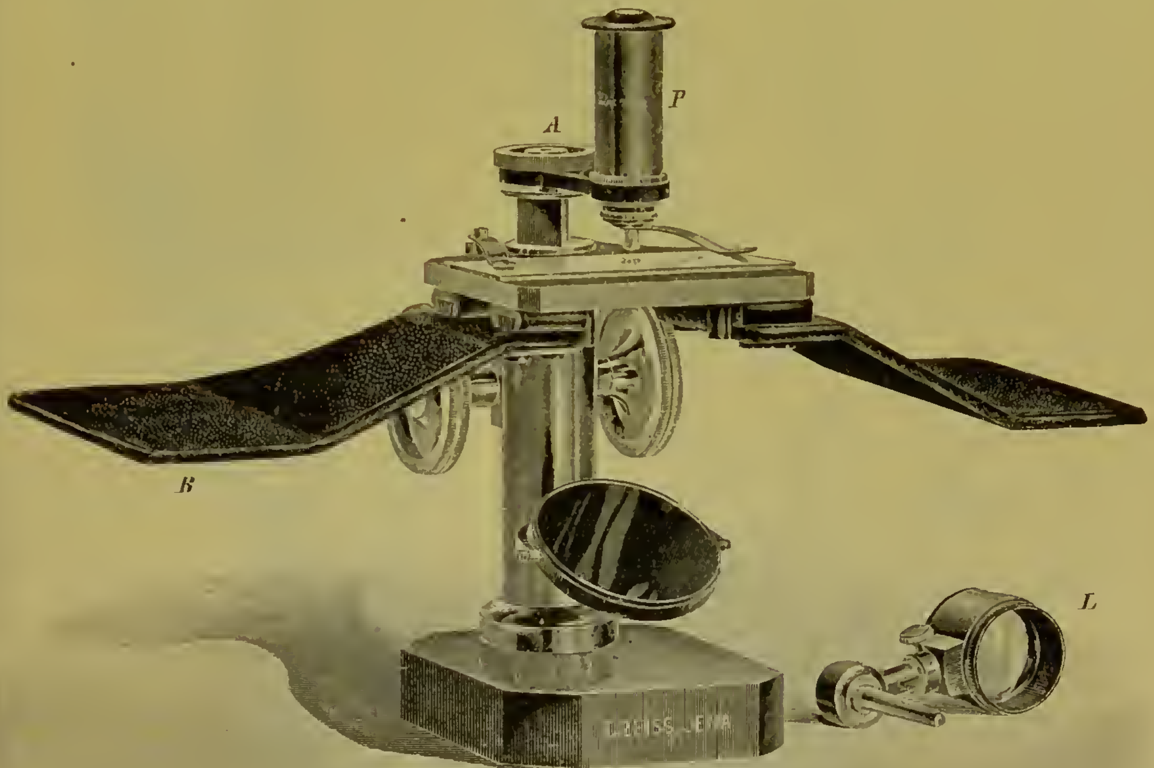
Allegorische Figur von einem Titel-Kupfer, zeigend, wie Leeuwenhoek's Mikroskope gehalten wurden.

gesehen, allerdings nicht ihrer Natur nach erkannt. Die ersten Abbildungen davon liefert uns Leeuwenhoek. Eines seiner Mikroskope zeigt Abbildung 78. Wie es benutzt wurde, zeigt Abbildung 79. Es war ein wunderliches Instrument, vergrösserte aber ziemlich stark. Es gerieth in Vergessenheit. Andere Vergrösserungsgläser kamen auf, die zwar bedeutend weniger — optisch — leisteten, aber wie die Lupe nach Joblot (1718) eleganter waren. Allmählich wurden die Linsen wieder stärker, und es kam z. B. unter Lieberkühn ein Taschenmikroskop zustande. Diese Mikroskope mussten alle in der Hand gegen das Licht gehalten werden.

Ungefähr um dieselbe Zeit kamen die Kombinationen verschiedener Linsen aus Flint- und Kronglas, die sogenannten »achromatischen« Systeme auf. Aus jener Zeit datirt z. B. die Uhrmacherlupe und andere zum Theil auch jetzt noch überall gebräuchliche Instrumente, z. B. Lupenstativ von ZEISS mit aplanatischer Lupe nach STEINHEIL. Solche Instrumente sind heutzutage gang und gäbe, wie das Präparirmikroskop nach SEIBERT, und ein gleiches nach C. ZEISS (Fig. 80), eine Form, die gegenwärtig sehr viel gebraucht wird.

Alle diese Instrumente sind sogenannte »einfache« Mikroskope. Das Objekt wird durch sie einmal vergrössert. Diejenigen Mikroskope aber, welche augenblicklich in Gebrauch sind, die zusammengesetzten Mikroskope, leisten ein doppeltes. Das Bild, welches die dem Objekt zunächstliegende Linse

Fig. 80.



oder Linsenkombination liefert, wird wieder vergrössert. Das erste dieser Mikroskope stammt her von JANSSEN, 1590. Die Idee, solche zusammengesetzte Mikroskope zu verfertigen, war also ebenso alt wie LEEUWENHOEK mit seinen wunderlichen Instrumenten.

Fig. 81 ist die Abbildung eines solchen zusammengesetzten Mikroskopes von ROBERT HOOKE, 1667, das sich von dem ersten Mikroskop von JANSSEN vortheilhaft unterscheidet durch freiere Aufstellung. Das Mikroskop ist von dem sogenannten Dreifusssystem abgewichen und dadurch freier beweglich geworden.

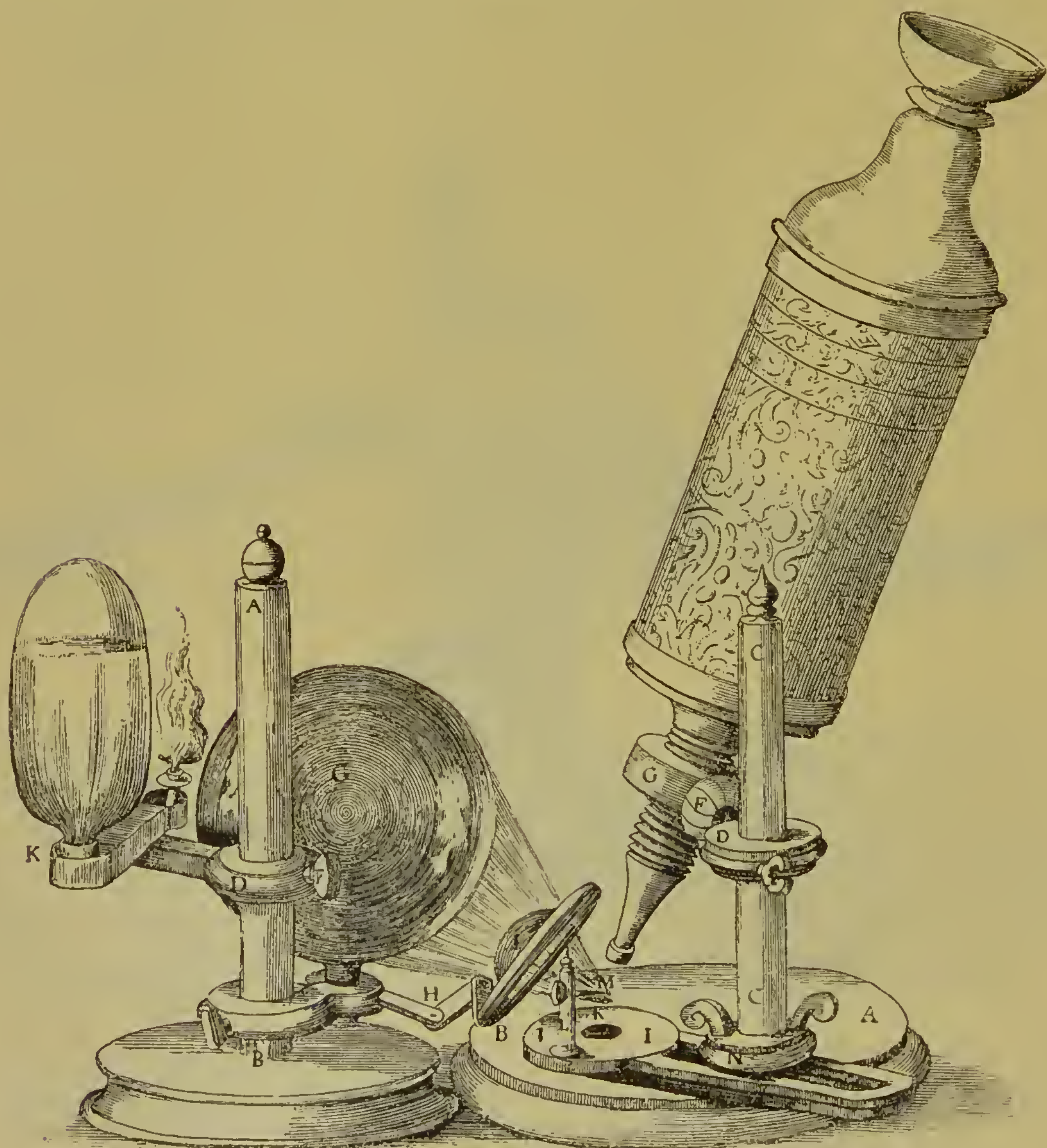
Ein Verehrer von HOOKE war der bescheidene und berühmte Italiener BONANNI, der unter anderen Mikroskopen 1671 ein grosses Instrument konstruirte, das in staunenerweckender Weise an unsere modernen Apparate erinnert.

Doch diesen Mikroskopen haftete noch der alte Uebelstand an, dass zur Beobachtung stets ein und dieselbe Linsenkombination gebraucht wurde.

Eine ganz wesentliche Verbesserung kam dadurch auf, dass verschiedene Linsensysteme für ein Mikroskop passend konstruirt wurden (1704 von John Marshall konstruirt). Die Einrichtungen desselben waren recht sinnreich. Es fehlte ihm aber der Spiegel, der erst später an die Stelle einer Linse trat.

Allen diesen Instrumenten hafteten die Unvollkommenheiten eines Mikroskopbaues aus Pappe, Bein, Horn etc. etc. an. Es fehlte ihnen das Feste und Gediegene. Um die Mitte des achtzehnten Jahrhunderts, um 1740—50

Fig. 81.



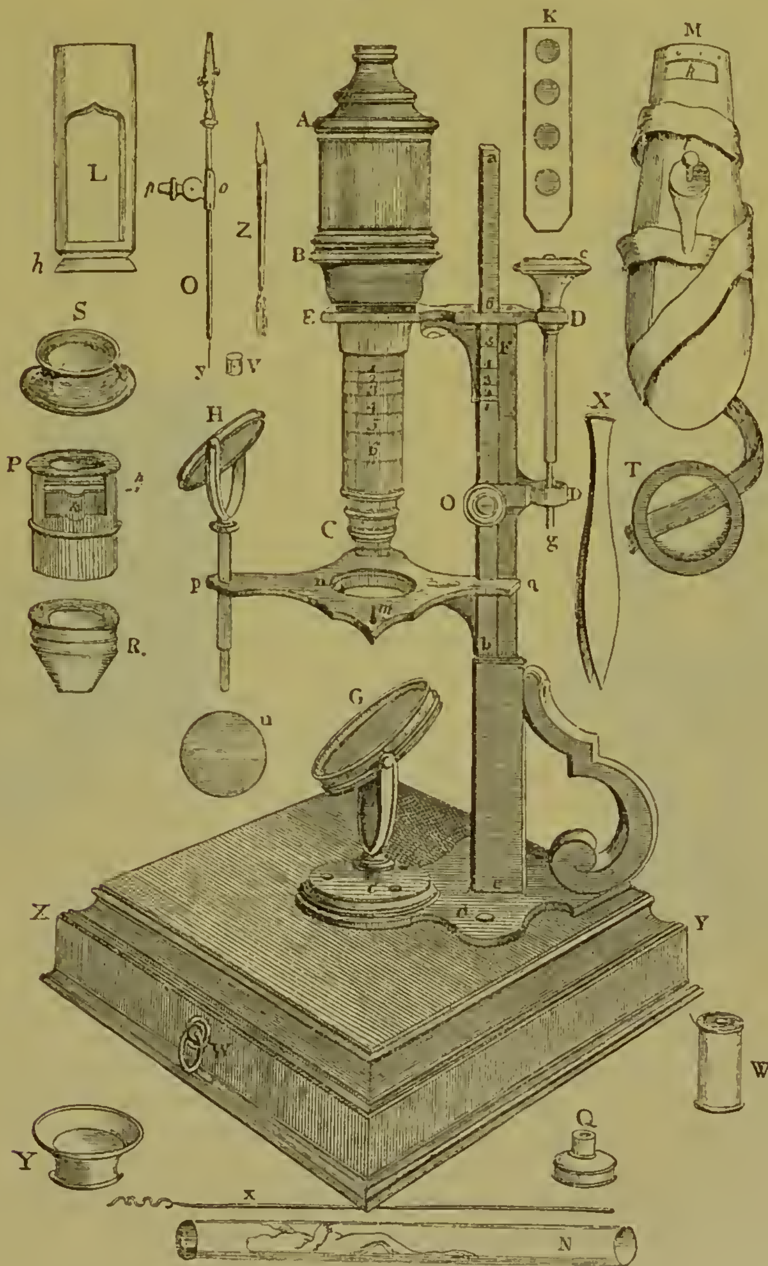
Mikroskop von ROBERT HOOKE, 1667. Faksimile der Original-Abbildung.

etwa, fing man an, die Mikroskope ganz aus Mètall, aus Messing, zu machen. Ich erwähne hier das Cuff-Baker'sche Mikroskop, a new constructed, double (reflecting) microscope, das 1744 in England erschien. Das Mikroskop steht auf der Höhe der damaligen Leistungen und Fig. 82 zeigt es inmitten aller Nebenapparate. Von diesen sei hier, als sonst schwer verständlich, der Apparat *M* erwähnt, der zur Beobachtung des Blutkreislaufs in der Schwanzflosse des Fisches diente. Leeuwenhoek hatte sie zuerst eingeführt, und an ihn und seine Technik lehnen sie sich an. Auf die Erklärung der ein-

zelnen Nebenapparate brauche ich wohl nicht einzugehen. Bei aufmerksamer Betrachtung der Zeichnung wird ein jeder die Bedeutung derselben herausbekommen.

Eine gewisse Vollkommenheit hatten die Mikroskope erreicht. Das Stativ war dauerhaft und sogar mit sehr komplicirten Einrichtungen ver-

Fig. 82.



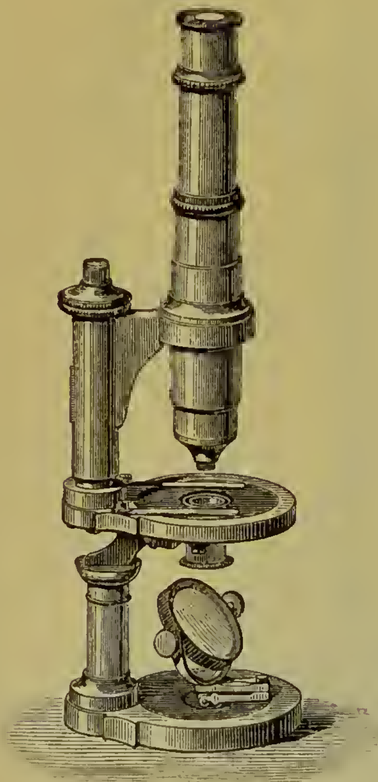
Mikroskop von CUFF-BAKER, 1744.

sehen. Es fehlte an der optischen Einrichtung. Die grossen Entdecker auf dem Gebiete der Optik, ein NEWTON, FRAUNHOFER etc., kamen auf, und ihre Leistungen wurden erst ganz allmählich vom Mikroskopbau übernommen. Jetzt erst wurden die Linsen, also der optische, eigentliche Haupttheil des Mikroskops, verbessert. Das Stativ mit seinen komplicirten Einrichtungen wurde vereinfacht. So entstand zuerst in Frankreich diejenige Form des Mikroskops, die im wesentlichen auch noch heute üblich ist.

Fig. 83 ist ein Studentenmikroskop von Chevalier, um 1850. Es weist mehrfache Verbesserungen gegen früher auf. Die feine Einstellung geschieht durch eine sogenannte Mikrometerschraube, die in dem Stativtheile oberhalb des feststehenden Objekttisches steckt. Die grobe Einstellung des Tubus geschieht durch Gleiten in einer äusseren Hülse. Der Fuss dieser Instrumente hat die Gestalt einer schweren Metallscheibe erhalten. Im allgemeinen ist dieses Princip bis jetzt beibehalten worden.

Die Linsen wurden endlich verbessert. Amici trat an die Oeffentlichkeit mit seinen Immersionssystemen. Die Immersion ist als ein wesentliches Glied in der Vervollkommnung der Mikroskope anzusehen, wenngleich dieser Art und Weise, zwischen Objekt und Frontlinse ein das Licht stärker wie Luft brechendes Medium einzuschalten, von Anfang an mit Zweifel begegnet worden ist.

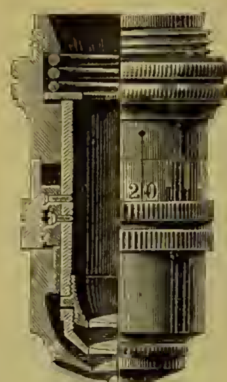
Fig. 83.



Microscope d'étudiant von CHEVALIER um 1850.

Von nun an begegnen wir Verbesserungen in den Objektivsystemen, die zu verfolgen über das Interesse dieses Buches hinausgeht. Ein System, welches noch heute gebraucht wird, ist in Fig. 84 abgebildet. Es enthält vier Linsen, zwei obere und zwei untere. Die Entfernung dieser beiden Gruppen von einander wird durch die Korrektionsfassung regulirt, und zwar der Deckglasdicke konform. Die Ausführung dieses Korrektionsmechanismus geschah zuerst von Ross in der Weise, dass die hintere Linse oder das hintere Linsenpaar feststehend, die Vorderlinsen beweglich montirt wurden.

Fig. 84.



Objektiv mit Korrektionsfassung von C. Zeiss.

Doch nicht nur die Linsen, durch welche das Objekt gesehen wird, wurden verbessert, sondern auch die Einrichtung am Objekttische selbst erforderte und erlangte ganz wesentliche Verbesserungen. Es bildete sich allmählich der »Beleuchtungsapparat« aus, auf welche Hilfe die alten Mikroskope ganz verzichteten. Dieser Beleuchtungsapparat nach Abbe ist ein sehr wesentlicher Theil des Mikroskopes. Um ein Objekt deutlich und vergrössert zu sehen, ist vor allen Dingen erforderlich, dass dasselbe im besten Lichte erscheint. Diese Durchlichtung des Objektes besorgt der Abbe'sche Apparat mit vollem breiten Lichtkegel. Durch diesen Apparat wird ermöglicht, das Objekt in der Weise zu belichten, welche für die mikroskopische Sichtbarkeit desselben am günstigsten ist. Soll z. B. ein gefärbter Gegenstand mikroskopirt werden, so ist demselben möglichst viel Licht (natürlich auch solches von der Farbe des Objektes) zuzuführen. Das ungefärbte

»Strukturbild« wird durch die lebhafte Färbung verdeckt. Ein voller, breiter Lichtkegel ist dazu erforderlich, wie ihn der offene »Kondensor« liefert. Bei einem ungefärbten Gegenstande wird aus dem vom Spiegel reflektirten Lichte ein Theil herausgeschnitten. Dies geschieht vermittelst der Blende, Fig. 85. Sie besteht aus einer grösseren Zahl dünner, sichelförmiger Metallplättchen. Durch Bewegen des aus der Peripherie herausragenden Knopfes verschieben sich die Sicheln mehr oder weniger übereinander, und so wird die centrale Oeffnung nach Belieben erweitert oder verengert. Die Irisblende kann ausserdem auch horizontal verschoben und gedreht werden. So ist es möglich, jeden beliebigen Lichtstrahl aus dem allgemeinen Lichtkegel herauszuschneiden. Die Vervollkommnung dieses ganzen Apparates ist im wesentlichsten der Firma C. Zeiss, Jena, zuzuschreiben.

Wir sind nunmehr zu den Mikroskopen unserer Zeit gelangt. Dieselben sind allgemein in Stativen montirt, die dem Modelle des in Fig. 86 dargestellten Mikroskopes entsprechen, natürlich mit allerlei Abänderungen. Am Aufbau des Stativs der modernen Mikroskope sind folgende Hauptstücke betheiligt:

1. Der Fusstheil. Derselbe soll nach Gestalt und Gewicht derart beschaffen sein, dass der Schwerpunkt des ganzen Instrumentes nicht nur genügend gestützt ist, sondern so tief liegt, dass ein Umkippen selbst des umgelegten Mikroskopes möglichst erschwert wird. Der Hufeisenfuss erfreut sich berechtigter Beliebtheit. Auch ältere Formen, wie die parallelopipedische Form oder die dem Hufeisen ähnliche Gabelform erfüllen bei genügender Schwere ihren Zweck. Die hohen Dreifüsse der englischen Mikroskope und die flachen Greiferklauen z. B. des Zentmayer'schen Centennialstandes sind für die riesigen Instrumente, welche sie stützen, am Platze. Unsere sogenannten kontinentalen Mikroskope bedürfen dieser Vorrichtung im allgemeinen nicht.

Fig. 85.



Irisblende von Zeiss.

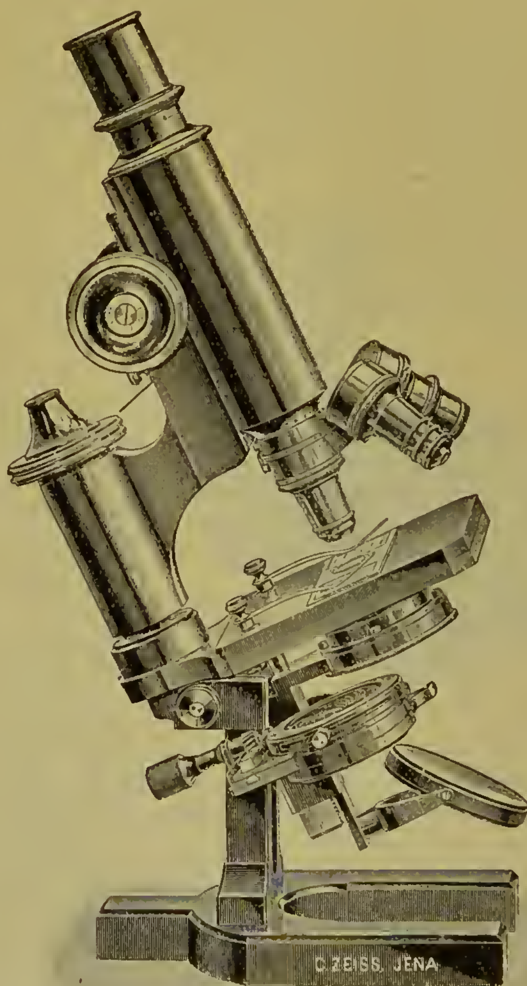
Die kreisrunden oder ovalen Fussplatten kommen nur selten noch zur Anwendung. Sie verdienen ihrer geringen Stabilität wegen abgeschafft zu werden. Die Füsse werden zweckmässig so eingerichtet, dass sie nicht mit der ganzen Unterfläche, sondern nur mit drei etwa die Ecken eines gleichschenkeligen Dreiecks ausfüllenden Fussflächen den Arbeitstisch berühren. Untertheile von Dreifussform besitzen einzelne kleinere Stative. Der Fusstheil hat einen senkrecht nach oben ragenden Fortsatz, der die übrigen Theile des Mikroskops trägt. Bei den zum Umlegen eingerichteten Instrumenten reicht er bis zum Umlegegelenk, bei den einfacheren anderen Stativen entweder bis zur Ansatzfläche der zur Aufnahme des Tubus bestimmten Hülse, in welchem Fall er die ganze Säule repräsentirt, oder nur bis zum Obertheil der Säule, einen Theil der Mikrometervorrichtung bergend.

2. Die Säule. Ihr unteres Ende ist meist senkrecht von verschiedener Gestalt und unverrückbar fest mit dem Fuss verbunden. Bei manchen Stativen liegt die Axe des Umlegegelenkes nur wenige Centimeter über der Fussplatte. Meist liegt sie etwas höher, an der Grenze des unteren und mittleren Drittels. Von ihrer Lage ist Gestalt und Gewicht der Theile abhängig. Selten, fast nur bei kleinen Mikroskopen, bildet die Säule ein solides Ganzes. Gewöhnlich folgt auf den mit dem Fuss verbundenen unteren Theil, der, wie bei Zeiss, auch gegabelt sein kann, im Anschluss an die (mit Fixirschraube versehene) Umlegevorrichtung ein Mittelstück, welches Objekt-

tisch und Beleuchtungsapparat trägt und die Stütze für den oberen Theil der Säule bildet. Dieser obere Theil, mit dem mittleren durch die Mikrometervorrichtung verbunden, trägt an einem Horizontalarm die zur Aufnahme des Tubus bestimmte Hülse; bei den grösseren Modellen bildet diese ein besonderes Stück, das an den Horizontalarm durch die bekannte Zahn- und Triebvorrichtung zur groben Einstellung angegliedert ist. Die Güte eines Stativs und die Brauchbarkeit des Mikroskops ist von der tadellosen Ausführung und dem sicheren Funktioniren dieser Theile abhängig.

Alle Bewegungen (Umlegen, grobe und feine Einstellung, Verschiebung der Beleuchtungsapparate etc.) müssen gleichmässig leicht und sicher ausgeführt und an jedem Punkte der Bahn mit absoluter Schärfe sistirt werden können, ohne dass durch das Eigengewicht der Theile eine Nachbewegung folgt. Die Abnutzung der Gleitflächen, Schraubengänge und Zahn- und Triebmechanismen sei auf einen möglichst geringen Betrag reducirt. Die meisten Werkstätten liefern jetzt schon der Konkurrenz wegen in dieser Beziehung gute Arbeit. Diese kostet natürlich mehr als der Nothbehelf früherer Jahrzehnte. Immerhin trägt das für ein gutes Stativ ausgegebene Geld reichliche Zinsen durch die entsprechende Förderung und Erleichterung der Arbeit beim Benutzen des Mikroskopes.

Fig. 86.

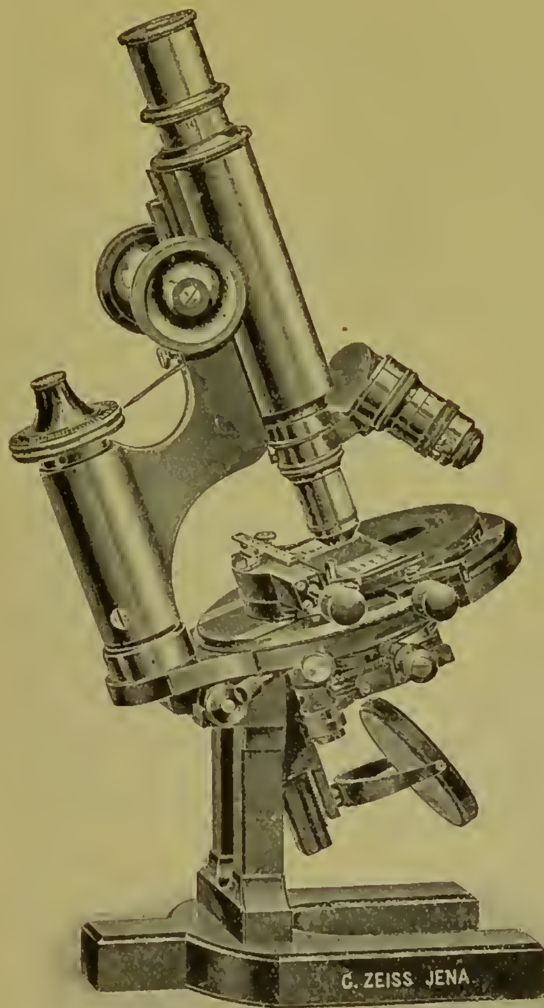


Mikroskop mit Stativ Ia und neuem beweglichen Objekttisch von C. Zeiss, 1895.

3. Der Objekttisch. Derselbe ist bei den einfachsten Mikroskopen fest mit der Säule verbunden. Bei den mit feiner Einstellung versehenen, einfacheren Instrumenten sitzt er an dem Fusstheil des Stativs. Bei den mittleren und grossen zum Umlegen eingerichteten Stativen ist er mit dem Mitteltheil verbunden und demselben unmittelbar über dem Umlegegelenk eingefügt (Fig. 86). Die Grösse des Objekttisches bedingt wesentlich die Brauchbarkeit eines Mikroskops. Die neueren Instrumente tragen denn auch meist diesbezüglichen Ansprüchen genügend Rechnung. Die Zeiss-schen Modelle, welche hier als typisch herausgegriffen sind, mögen zur Illustration genügen. Speciell für bakteriologische Arbeiten, wie die Untersuchung von Platten und Schälchen, ist ein ausreichend grosser Objekttisch unerlässlich. Stativ IVa von C. Zeiss (Fig. 86), für bakteriologische Arbeiten sehr beliebt, hat einen solchen Objekttisch aus Hartgummi von 90 × 90 Mm. Grösse. Die Gestalt des Tisches, ob viereckig oder rund, ist nicht von wesentlicher Bedeutung. Die runden Tische sind häufig zum Umdrehen um die optische Axe eingerichtet. Das ist für viele Arbeiten zweckdienlich und für manche

unerlässlich. Die grösseren Stative von C. ZEISS, z. B. das in Fig. 87 wiedergegebene Stativ Ia, haben die Vorrichtung. Mit derselben ist auch die Einrichtung verbunden, dass der Objektträger in zwei aufeinander senkrechten Richtungen in der Tischebene durch Mikrometerschrauben bewegt werden kann, für die exakte Absuchung des Präparates bekanntlich eine sehr wichtige Rolle. Der Ausschlag bei den Bewegungen wird vermittels zweier Skalen durch Noniusablesung kontrolirt und dadurch ermöglicht, bestimmte Stellen des Präparates jederzeit wieder aufzufinden. Aehnliche Konstruktionen sind seit längerer Zeit bekannt. Die hier erwähnte ZEISS'sche Vorrichtung wird als »neuer, mechanisch beweglicher, grosser Kreuztisch« geführt (vergl. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, Bd. 11, H. 3).

Fig. 87.



Mikroskop mit Stativ IVa von C. ZEISS, 1895.

Mit dem Mitteltheil des Stativs sind nun auch die Apparate zur Beleuchtung des Objektes, einschliesslich der Blenden etc., verbunden. Bei den grösseren Mikroskopen sind dieselben durch Zahn- und Triebvorkehrung, bei den kleineren durch Gleitbewegung durch die Hand vereinigt. Nur bei den kleinsten Stativen, welche des ABBE'schen Beleuchtungsapparates entbehren, ist der Spiegel fest mit der Säule verbunden.

Die Stative für specielle Untersuchungen, z. B. mineralogische, oder für polarisirtes Licht, haben zum Theil besonders konstruirte Objekttische, deren Beschreibung wohl hier entfallen kann.

Dasselbe gilt von den Objekttischen mit Heizvorrichtung oder für elektrische Bearbeitung des Objektes. Sehr wichtig und neuerdings wohl allgemein ausreichend berücksichtigt ist die Wahl eines widerstandsfähigen Materials für den Objekttisch. Geschwärztes Messing, Hartgummi und in einigen Fällen auch Glas ist hier zu nennen. Hartgummi besitzt den Vorzug. Löcher zum Anbringen von Objektklemmen, zum Aufsetzen von anderen Vorrichtungen sind für gewöhnlich angebracht.

Sonst soll die Ebene des Tisches glatt und ohne Hervorragungen irgend welcher Art sein. Manche Modelle sind mit auswechselbaren Objekttischen zu verschiedenen Zwecken versehen.

Dabei ist nur die Unterlage der Tische fest mit dem Stativ verbunden. Die Firma W. & H. SEIBERT benutzt für die Bewegungen des Objekttisches

eine Vorrichtung nach englischer Art. Die beiden Griffe liegen in einer Ebene an der rechts vom Arbeiter gelegenen Seite des Tisches. Bei C. ZEISS ragt der eine Griff rechts seitlich, der andere in der Mitte nach oben aus der Ebene des Objekttisches hervor. Die Vorrichtung von SEIBERT dürfte manchem handlicher sein. Die grösseren Stative von E. LEITZ, welche neuerdings rasch in Aufnahme gekommen sind, ähneln denen von E. ZEISS.

Die Angriffe für die Objekttischverschiebungen sind, wie bei SEIBERT, beide auf der rechten Seite des Mikroskopes; ein Trieb am Objekttisch der andere oberhalb der Umlegevorrichtung zwischen Säule und Objekttisch.

Derjenige Theil des Stativs, welcher den Obertheil der Säule bildet und bei den mit seiner Einstellung ausgerüsteten Modellen diese Vorkehrung trägt, ist vermittels eines Seitenarmes mit der Hülse, bezw. dem Tubus verbunden. Es ist natürlich von Wichtigkeit, dass der Seitenarm genügend lang ist, damit der Tubus genau in der Mitte über dem Objekttisch gehoben und gesenkt werden kann. Einige Werkstätten benutzen einen doppelten Seitenarm mit Gelenkverbindungen und mittlerem Führungsstück, z. B. die schönen Stative von W. & H. SEIBERT in Wetzlar sind so ausgerüstet.

4. Die Einstellvorrichtungen. Ganz einfache Instrumente, bei denen die Einstellung ohne Zuhilfenahme besonderer Vorkehrungen nur durch Verschieben des Tubus in der Hülse mit der Hand erfolgt, werden zwar vielfach gemacht und für Laien vertrieben, kommen jedoch für wissenschaftliche Arbeiten nicht in Betracht. Die einfachsten Arbeitsstative haben neben dieser Gleitbewegung für die grobe für die feine Einstellung wenigstens eine Schraubeneinrichtung. SEIBERT benutzt dazu am Stativ VIII seines kleinen Mikroskops noch die alte, sonst aufgegebene senkrechte Bewegung des Objekttisches durch eine rechts unter demselben angebrachte Schraube. Die meisten anderen Werkstätten rüsten auch die kleinen Stative mit einer den Tubus hebenden und senkenden Mikrometervorrichtung aus.

Bei den mittleren und grösseren Stativen geschieht die grobe Einstellung durch Zahn und Trieb, eine der Gleitbewegung bedeutend überlegene und sichere Einrichtung. Für die Mikrometerschraube zur feineren Einstellung giebt es mehrere derzeit gangbare Systeme, deren Details in dem Artikel Mikrometerschraube ausführlich dargelegt sind. Das Wesentliche ist ein gleichmässig sanfter und sicherer Gang. Meist wird die Vorrichtung mit einer Eintheilung der Kopfschraube zur Bestimmung der Hubhöhe versehen. Diese Schraube ist theils oben, theils unten am Stativ angebracht. Letztere Anbringung wird von manchen Mikroskopikern für besonders handlich, bezw. bequem erachtet. Die SEIBERT'schen Mikroskope sind z. B. so eingerichtet. Bei dem grossen Stativ I dieses Institutes ist für die allerfeinste Einstellung in der Mitte der Vorderseite der Säule noch eine dritte Schraube angebracht.

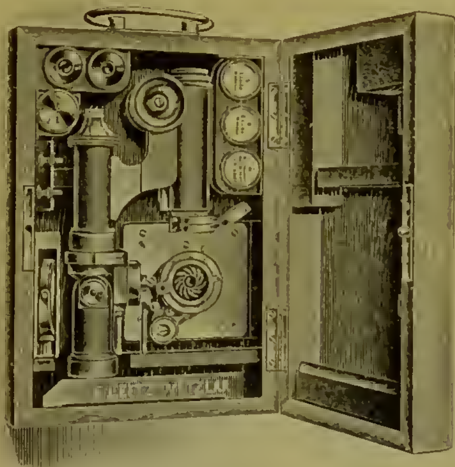
5. Der Tubus. Bei den kleinen und einem Theil der mittleren Stative ist der Tubus eine meist mit Auszug versehene Röhre, welche frei in der Hülse gleitet, bezw. darin gedreht und herausgezogen werden kann. Bei den grösseren Modellen fällt die Gleithülse fort, ist vielmehr mit dem unteren, durch Zahn und Trieb dem Seitenarm angegliederten Tubustheil identisch, in welchem der Auszug drehbar und verschliessbar ist. Der Tubusauszug wird jetzt meist mit Millimeterskala behufs Bemessung der Gesammtlänge versehen, da der optische Apparat unserer (kontinentalen) Mikroskope auf die Länge von 160 Mm. justirt ist, gemessen von der Aufliegefläche des Okulars auf dem oberen Tubusrand bis zur oberen Ansatzfläche des Objektivs an den Tubus oder an etwaige Zwischenstücke (Revolver, Schlitten etc.).

Die Verbindung der Okulare mit dem Stativ geschieht fast ausnahmslos durch Einschieben derselben in das obere Tubuslumen. Die Objektive

werden entweder unten an das verjüngte Ende des Tubus angeschraubt (society screw) oder durch Vermittlung von Zwischenstücken zum Wechsel der Objektive verbunden, wie Revolver, Revolverscheiben, Schlittenvorrichtungen und ähnliche. Selbstverständlich müssen derartige Vorrichtungen genau centrirt sein. Den Schlittenauswechslern giebt C. Zeiss einen Schlüssel zur genauen Einstellung der Mitte zu.

Auch die Unterbringung des Mikroskopes ausserhalb der Benutzung ist von grosser Wichtigkeit. Sie muss derart eingerichtet sein, dass die einzelnen Bestandtheile unbeweglich beim Transport liegen und das Ganze vor Staub geschützt bleibt. Die üblichen Kästen pflegen zu genügen. Vorzuziehen sind die neuerdings eingeführten Schränkchen, in denen Okulare, Objektive — diese in besonderen Hülsen — und allerlei Nebenapparate Platz finden. Für die Unterbringung der Objektive an den Schlittenschiebern hat C. Zeiss besonders praktische Kästchen mit Schloss angefertigt, die zum täglichen Gebrauch zu empfehlen sind.

Fig. 88.



Eine Beschreibung der englischen und amerikanischen neueren Stative habe ich unterlassen, weil diese Mikroskope bei uns wenig in Gebrauch sind; dasselbe gilt von den neuesten binokulären Mikroskopen. Hinsichtlich der früher erwähnten katoptrischen und katadioptrischen Mikroskope, die nur noch ein historisches Interesse beanspruchen, verweise ich auf den betreffenden Abschnitt in dem Buche von Harting.

Für Reise- und Exkursionszwecke werden in vielen Werkstätten besonders kompendiöse und wenig Raum beanspruchende Mikroskope angefertigt, die sich im optischen Theil von den anderen Mikroskopen jedoch nicht unterscheiden, und im Stativ mehrere, ein enges Zusammenpacken ermöglichende Sonderheiten bieten (Fig. 88). Ein Eingehen auf diese Details erscheint mir erlässlich, da aus den Preisverzeichnissen alles Wissenswerthe ersichtlich ist.

Petri, Görbersdorf.

Mikroskopirlampen. Die Aufgabe der künstlichen Lichtquellen, uns von den regelmässigen Schwankungen des Tageslichtes nach Tages- und Jahreszeit und von seinen unregelmässigen Veränderungen nach dem Wechsel der Witterung unabhängig zu machen, tritt beim mikroskopischen Arbeiten noch viel greifbarer zu Tage, als im täglichen Leben; zumal da sich die Erkenntniss immer mehr Bahn bricht, dass für die Erforschung der feinsten und somit wichtigsten Strukturen die richtige und aufs feinste veränderliche Beleuchtung mindestens ebenso wichtig ist als die tadellose Herstellung des Präparats. Ueberdies mehren sich die Stimmen, die der dauernden Gleichmässigkeit, in manchen Fällen auch der bedeutenderen Intensität halber (Nelson, Apáthy, van Heurck, Dallinger) auch bei Tage dem künstlichen Lichte den Vorzug geben im Gegensatz zu der früher allgemein und auch jetzt noch sehr weit verbreiteten Scheu vor dem Mikroskopiren bei Lampenlicht. Dieses hat naturgemäss mit den Fortschritten der Beleuchtungstechnik mannigfachen Wandel erfahren: es erübrigt, den Weg von der Kerzenflamme, der Oel-, Petroleum- und Argand'schen Gaslampe zum elektrischen Licht und Gasglühlicht zu verfolgen; hat doch Apáthy, dem wir meist gefolgt sind, eine erschöpfende Uebersicht über alle Beleuchtungsfragen erst vor kurzem gegeben.

Die künstlichen Lichtquellen dienen sowohl zur Beobachtung im durchfallenden wie im auffallenden Licht.

Bei der Beobachtung im durchfallenden Licht wird entweder der Tubus des Instruments direkt auf die Lampe gerichtet, wie es bei den allerersten Mikroskopen der Fall war und heute beim mikrophotographischen Arbeiten üblich ist, oder man entnimmt ihr das Licht indirekt mit Hilfe des planen oder konkaven Spiegels. In diesem Fnlle sind in der Regel Vorrichtungen nothwendig, um das im allgemeinen sonst weniger ausnutzbare Lampenlicht durch Koncentration möglichst vieler von der Lichtquelle entsandter Strahlen zu verstärken und um eine gleichmässige Helligkeit des Gesichtsfeldes zu erzielen, die bei der künstlichen Beleuchtung nicht ohne weiteres vorhanden ist. Soweit die der Beleuchtung dienenden Apparate allmählich zu integrirenden Bestandtheilen des Mikroskops geworden sind, wie der Spiegel, die Blende, der Kondensor, muss auf das »Mikroskop«

Fig. 89.

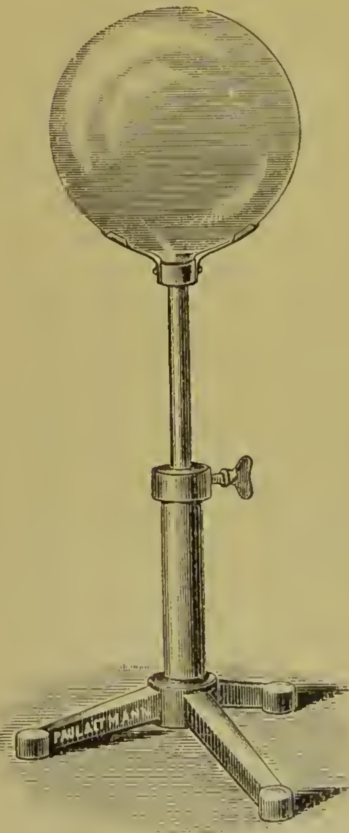
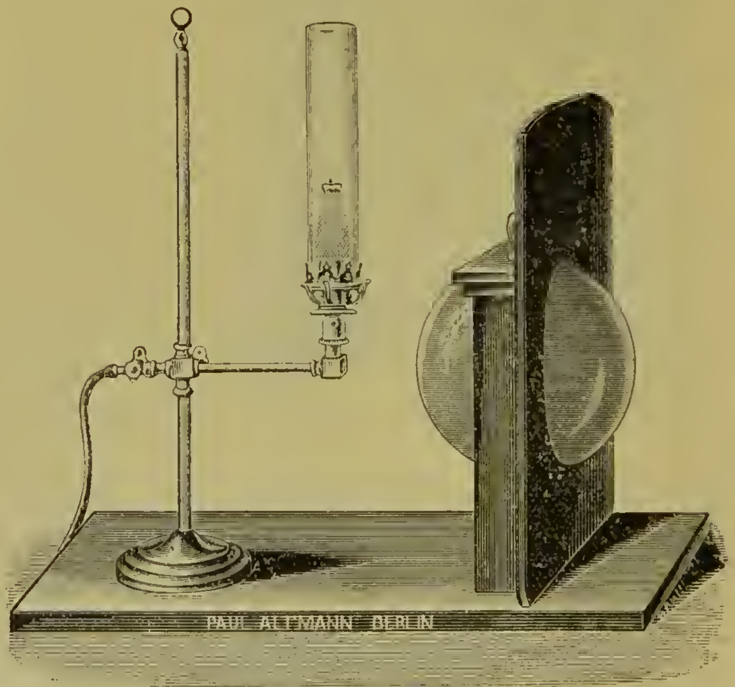


Fig. 90.



verwiesen werden; ebenso für die nahezu ausschliesslich für die Mikrophotographie und die Projektion benutzten sehr intensiven Lichtquellen, wie das Kalk-, Magnesium-, Zirkon- und Bogenlicht auf »Mikrophotographie«. Die Hydroxygengasmikroskope und die Magnesiumlampen endlich haben nur noch ein historisches Interesse (Harting).

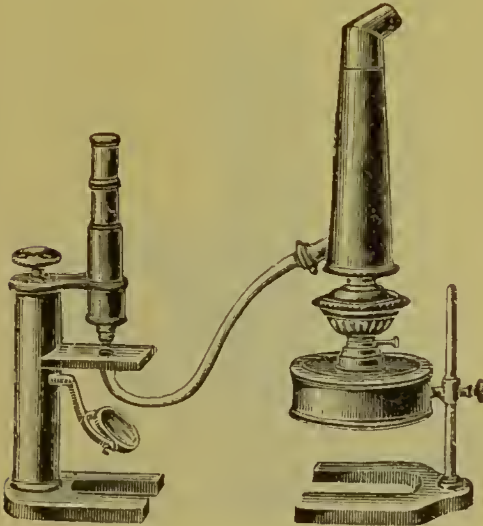
Zwei optische Hilfsmittel bieten sich zur Koncentration des Lichtes dar: die Linse vor und der Reflektor hinter dem leuchtenden Körper.

Das Urbild der Mikroskopirlampe, die Lampe mit einer Schusterkugel von Robert Hooke (1665), gehört in die erste Kategorie: bis auf den heutigen Tag ist sie das bequemste und billigste Mittel, um aus jeder Tischlampe eine selbst für starke Vergrösserungen brauchbare mikroskopische Lichtquelle zu schaffen. Man hat sie auf besondere Ständer gesetzt, auf solche, die eine Verstellung der Höhe nach zulassen (Fig. 89), und auf andere, die zum gleichzeitigen Schutze des Auges vor Nebenlicht einen Schirm darstellen (Fig. 90).

Zu ihrer Füllung dient nach KITTON, der sie aufs neue empfohlen hat, eine wässerige Lösung von Kupfersulfat (15 : 600) oder nach HARTING eine sehr verdünnte Lösung von Kupfersulfatammoniak: das Wasser muss luftfrei sein, da zuweilen an der Glaswand ansitzende Bläschen stören können. Was die Farbe anlangt, so ist es am besten, sich nicht an genaue Vorschriften zu binden, sondern die Lösungen soweit zu verdünnen, bis für die ständige Lichtquelle eine dem Arbeitenden gerade angenehme Korrektur auf »weiss« erreicht ist. ZIMMERMANN schlägt statt der Schusterkugel eine gewöhnliche Kochflasche vor. Diese einfachen Vorrichtungen wurden in mannigfacher Weise zu plankonvexen und bikonvexen Linsen verfeinert, die man bald gleichsam als Beleuchtungslinse wie beim Tageslicht frei zwischen Lichtquelle und Objekt schaltete oder mit jener fest verband: so ist die NELSON-MAYALL'sche Petroleumlampe, die APÁTHY sehr lobend erwähnt, mit einer HERSCHEL'schen Doppellinse ausgerüstet. NELSON betont später, dass die Linsensysteme für Mikroskopirlampen einen Hauptfocus besitzen müssen, damit die ganze Linsenfläche als gleichmässig erleuchtete Scheibe erscheine, sobald die Flamme in jenem steht.

Der zweite Weg, die Lichtverstärkung durch Reflektoren, ist ebenfalls schon sehr frühzeitig, schon an der Argandlampe, eingeschlagen worden. Es lag sehr nahe, auf besondere Reflektoren zu verzichten und die innere Cylinderfläche selbst als Reflektor auszugestalten: einen solchen Lampencylinder, aussen geschwärzt, innen polirt, in Flammenhöhe aufgebaucht und mit einem runden Glasfenster versehen, verwandte FIDDIAN und sandte das Lichtbüschel ferner durch eine grosse HERSCHEL'sche Doppellinse; er erzielte damit eine Lichtquelle, die APÁTHY als »vielleicht die praktischeste und vollkommenste Petroleumlampe für mikroskopische Zwecke« bezeichnet. Auf die Spitze getrieben zeigt die KOCH-WOLZ'sche Lampe (Fig. 91) das Princip der Reflexion; innerhalb des Cylinders einer Petroleumlampe wird alles Licht möglichst auf das eine etwa 1 Cm. im Durchmesser grosse geschliffene Ende eines Glasstabes geworfen, der in den Cylinder eingefügt ist und in dem das Licht, am Austreten durch eine totale Reflexion an der Grenzfläche verhindert, fortfliesst, um nahezu ungeschwächt das andere ebenfalls geschliffene Glasstabende dicht über oder unter dem Objekt zu erleuchten. SCHIEFFERDECKER modificirte die Lampe durch Verwendung von Auer- und Zirkonlicht. Dieser Typus der Mikroskopirlampe mit Linse und Reflektor erzielte in der That wohl den höchsten Lichteffekt: seit der Einführung des AUER'schen Gasglühlichtes in die Mikroskopie durch BÜRKNER (1887) ist die Bedeutung einer aufs höchste gesteigerten Ausnutzung indessen zurückgetreten, da bei der hohen Leuchtkraft der Auerlampe der vom Spiegel entnommene Lichtbruchtheil selbst für starke Vergrösserungen hinreicht: man kann sich daher im allgemeinen mit einem Reflektor begnügen, wie ihn Fig. 92 zeigt. APÁTHY erwartet von der weiteren Ausbildung des Petroleum- oder Spiritusglühlichtes das Ideal einer Mikroskopirlampe, da bei dieser auch die Nothwendigkeit der Gasleitung fortfällt.

Fig. 91.

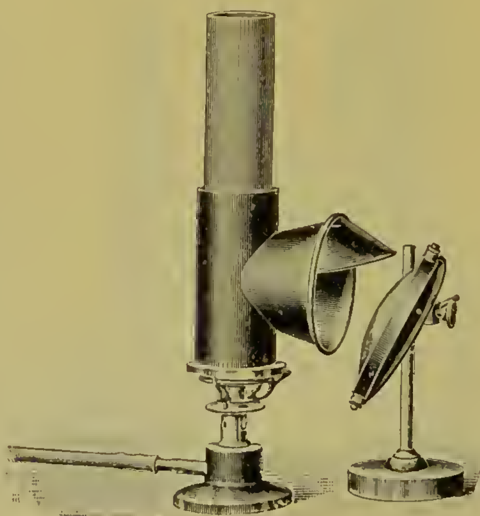


Mit dieser Errungenschaft des Auerlichts werden im allgemeinen auch die Bestrebungen hinfällig, eine erhöhte Leuchtkraft durch möglichste Annäherung der Lichtquelle an das Objekt oder den Spiegel zu erreichen. Die

englischen Lampen, besonders von NELSON-MAYALL, nutzten z. B. diesen Vortheil durch die scheibenförmige Gestaltung des Petroleumbehälters und eine grosse Annäherung der Flamme an die Tischplatte aus; andere durch die möglichste Verkleinerung der Lampe im ganzen.

Während bei starken Vergrösserungen nur ein relativ kleiner Bruchtheil der Leuchtfläche gleichmässig erhellt zu sein braucht, macht sich solche unregelmässige Erleuchtung der grossen Gesichtsfelder bei schwachen Objektiven aufs unangenehmste bemerkbar. Der allgemeine Grundsatz, der bei der Beseitigung dieses Uebelstandes befolgt wird, ist der, die Leuchtfläche nicht direkt zu benutzen, sondern eine von der Lampe hell beleuchtete Ebene als Lichtquelle zu benutzen: entweder die reflektirende Fläche eines stramm mit Papier, weisser Leinwand bespannten Rahmens (APÁTHY), eines »weissen Spiegels« aus Gips (GORING), Milchglas, Porzellan oder dergleichen, wie man solche Vorrichtungen z. B. auch für das Arbeiten mit direktem Sonnenlicht benutzt, oder eine Mattscheibe aus Glas, aus Pauspapier (APÁTHY), aus einer dünnen Bienenwachsschicht (WENHAM), die das durchfallende Licht allerdings ganz unregelmässig zerstreut. Die Anwendungsform kann ausser der im Blendenträger oder an sonst einer Stelle zwischen Spiegel und Objekt eingeschalteten Scheibe auch die eines mattirten Lampencylinders sein (APÁTHY). Dass in gleicher Weise die Färbung des Lichtes durch Blauscheiben, Blaumattscheiben, blaue Cylinder erfolgen kann, soll hier nur beiläufig erwähnt werden. Die Färbung des natürlichen Lichtes durch Lichtfilter hat, von einigen speciellen Fällen abgesehen, wie bei den Arbeiten PFITZNER's mit dem zur Tinktionsfarbe komplementären monochromatischen Licht, wesentlich mikrophotographisches und -spektroskopisches Interesse.

Fig. 92.



Auf zweierlei andere hierhergehörige Methoden sind Untersuchungen im monochromatischen Lichte ausgeführt worden: davon haben die BREWSTER'schen Versuche mit seiner Natriumflamme nur noch historisches Interesse. Die zweite, das Arbeiten in dem nur von einem bestimmten Bereich des Spektrums erleuchteten Gesichtsfelde, berührt sich mit den mikrospektroskopischen Anordnungen so innig, dass auf diese verwiesen werden kann.

Das elektrische Licht, der Lichtbogen, ist zuerst 1840 von BREWSTER empfohlen worden, zum Photographiren wurde er zuerst 1845 von DONNÉ und FOUCAULT benutzt; gleichzeitig bediente sich ALBERT VAN BEECK zur intermittirenden Beleuchtung des Funkens der Leydener Flasche. Während das Bogenlicht heute wohl nur zum Ersatz des direkten Sonnenlichts und wesentlich für mikrophotographische Zwecke dient, gewinnt das elektrische Glühlicht immer mehr Boden als schätzenswerthes Hilfsmittel bei der mikroskopischen Beobachtung. Man benutzt entweder die gewöhnliche Tischlampe oder eine besonders niedrig aufgestellte mattirte Birne, eine Anordnung, die jüngst TINE TAMMES näher beschrieben hat. Die weitere Entwicklung drängt indessen auf die immer weiter gehende Verkleinerung der Lampen hin und auf die Erzielung hoher Leuchtkraft trotz der Kleinheit durch Sammlung aller Strahlen mittels Linsen und Reflektoren, direkte Entnahme von der Lichtquelle und möglichste Annäherung an das Objekt in der Weise, dass

man die Lampen an die Stelle des Spiegels unter den Objekttisch oder die untere Kondensorfläche brachte.

Als wesentliche Vortheile des Glühlichts sind neben der Handlichkeit und leichten Regulirbarkeit der Lichtstärke, auf die im Interesse der Augen des Beobachters bedeutender Werth gelegt werden muss, nach ABBE von VAN HEURCK die weissere Farbe und die grössere Intensität des Lichtes bezeichnet worden: jene erhöhe infolge der grösseren Menge kurzwelliger Strahlen das Auflösungsvermögen der Objektive, das nach ABBE mit wachsender Wellenlänge abnimmt, diese gestatte noch die Verwendung sehr enger Lichtbüschel und somit eine schrägere Beleuchtung.

Die erste Anregung zur Verwendung des elektrischen Glühlichts ist von VAN HEURCK im Jahre 1882 ausgegangen, der auch weiterhin mit grossem Erfolge in zahlreichen Arbeiten die Glühbirne in die mikroskopische Praxis einzuführen bemüht war. STEARN und STEIN verbanden die Lämpchen, eins für durchfallendes, eins für auffallendes Licht, und sogar den Rheostaten

Fig. 93.

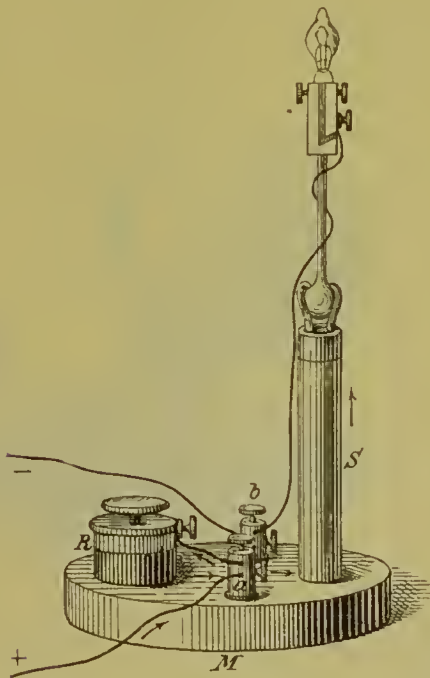
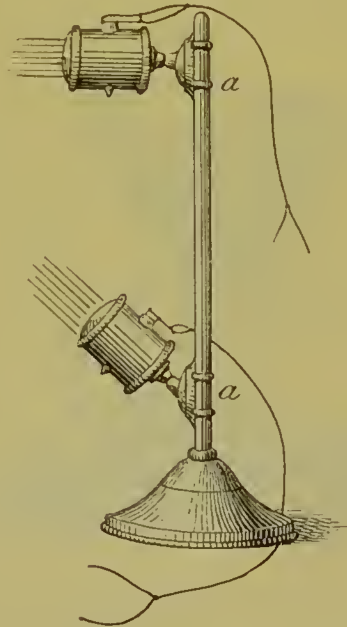


Fig. 94.



fest mit dem Mikroskop, eine schwerfällige und komplicirte Anordnung. HOBSON, VOIT in Gemeinschaft mit KÜHNE, KUPFFER, RÜDINGER, BOLLINGER und FLESCH äusserten sich zuversichtlich über die Zukunft der elektrischen Beleuchtung beim Mikroskopiren; ebenso hat ENGELMANN mehrfach die Brauchbarkeit des Glühlichts betont und auch selbst eine praktische Anordnung angegeben (Fig. 93). Es fehlte aber auch nicht an Stimmen, die wie DAVIS und NELSON abfällig über seinen Werth urtheilten; ihnen hat sich APÁTHY angeschlossen: er findet die Anwendung theuer und umständlich; die Lämpchen gingen rasch zugrunde; ferner erhebt er den bedeutsameren theoretischen Einwand, dass die Flächenausdehnung der von den Lämpchen gelieferten Leuchtstrecke zu gering sei und ihr Licht, das erst diffus gemacht werden müsse, bei etwas stärkeren Vergrösserungen nicht mehr genüge, um reine Absorptionsbilder zu liefern. Der praktischen Lösung dieser Aufgabe nähern sich die Einrichtungen, welche Lichtverlust durch Diffusmachen vermeiden und eine grössere Lichtfläche erzielen: STEIN hatte schon sein Lämpchen für auffallendes Licht mit einem Reflektor ausgestattet; VAN HEURCK benutzt den Photophor von HÉLOT-TROUVÉ (Fig. 94), der sich aus einem

Konkavspiegel, einem Lämpchen und einer Sammellinse zusammensetzt. STRASSBURGER schaltet ein beiderseits plan abgeflachtes Glühlämpchen zwischen den horizontal gestellten Hohlspiegel und den Kondensor, so dass jener einigermassen als Reflektor wirkt. Durch Verbindung des Glühlämpchens mit einem auf und nieder zu bewegenden parabolischen Hohlspiegel (Fig. 95, 96) erhält man eine nahezu, bis auf das durch die direkt von der Birne entsandten Strahlen etwas hellere Centrum, gleichmässig und sehr intensiv leuchtende Fläche, deren Durchmesser etwa dem des Kondensors angepasst wurde: ich glaube, dass man mit diesem Apparat selbst bei den allerstärksten Vergrösserungen eine allen Anforderungen entsprechende Gesichtsfeldbeleuchtung erreichen kann. Die geringe centrale Unregelmässigkeit stört nicht einmal beim Arbeiten mit ganz schwachen Objektiven. Die Regulirung der Helligkeit kann erstens durch die Stromveränderung und zweitens durch die Verstellung des Reflektors erreicht werden, so dass die Brennstrecke ganz oder zum grössten Theil aus dem Brennpunkte entfernt wird. Dass die Lebensdauer der Lämpchen keine sehr grosse ist, ist zuzugeben; dafür ist der Ersatz ausserordentlich einfach und von jedem Ungeübten auszuführen. Der Betrieb der elektrischen Mikroskopbeleuchtung ist allerdings,

Fig. 95.



Fig. 96.



aber doch nur unwesentlich theurer, wenn der Strom einer elektrischen Centrale zur Verfügung steht: Elemente und Batterien solcher dürften doch nur sehr vereinzelt dort noch in Frage kommen, wo man den mangelnden Anschluss auch nicht durch Akkumulatoren ersetzen kann; VAN HEURCK beschreibt die Batterien von TROUVÉ und von RAVIGUET; auch COXETER und NEHMER, BECK haben solche angegeben. Nothwendig ist ein Rheostat, um den Strom und damit die Lichtintensität schnell und einfach reguliren zu können, worin der Hauptvortheil der elektrischen Lampen zu liegen scheint. Um mit kleineren und daher billigeren Instrumenten auszukommen, benutzt man am besten die elektrische Tischlampe als festen Widerstand und leitet in bekannter Weise von ihrem Kopf den Strom für das Mikroskopirlämpchen ab: in diesen kleinen Stromkreis wird dann der Rheostat eingeschaltet. ENGELMANN hat einen ähnlichen sehr kompendiösen Widerstandregler angegeben, den VAN HEURCK beschreibt. Eine Anordnung ohne Rheostaten, die auf die Vortheile der feinen Regulirung und der maximalen Beleuchtungsintensität grösstentheils verzichtet und auf die indirekte Entnahme des Lichtes von einer mattirten Birne zurückgreift, hat kürzlich TINE TAMMES angegeben.

Nur mittelbar mit der Mikroskopirlampe hängen zwei Vorrichtungen zusammen, die den Schutz des Arbeitenden vor Nebenlicht und den der Präparate vor der Wärme der Lichtquelle zur Aufgabe haben. Beide haben

heute nicht mehr das grosse Interesse wie früher. DIPPEL hat besonders gegen die vollkommene Verdunkelung des Arbeitszimmers Einspruch erhoben: im Interesse unserer Augen warnt er vor dem schnellen und bedeutenden Lichtwechsel zwischen dem dunklen Zimmer und dem hellen Gesichtsfeld. Das Bedürfniss nach einer theilweisen Verdunkelung, wie sie der von FLÖGEL angegebene Dunkelkasten darstellt, kann indessen, wie die Empfehlung durch ENGELMANN zeigt, bei speciellen Arbeiten rege werden. Besondere Schutzschirme für das Auge, wie sie von manchen Seiten empfohlen wurden, sind durch allerdings primitive, von jedem nach seinem Bedürfniss leicht zu treffende Anordnungen zu ersetzen. Der Wärmeschutz hat bei der Benutzung von Auerlicht und elektrischem Glühlicht ebenfalls an Bedeutung verloren. Die Massregeln unterscheiden sich in nichts von den bei der Mikrophotographie üblichen Vorrichtungen.

Die künstlichen Lichtquellen zur Beleuchtung mit auffallendem Licht sind im allgemeinen die nämlichen wie die für das durchfallende Licht. Die elektrischen Lämpchen lassen sich meist für beide Methoden verwenden. Als Nebenapparat ist eine Vorrichtung zum Sammeln des Lichtes auf das Objekt zu erwähnen: eine Linse, je nach dem Zwecke von verschiedener, meist grosser Brennweite, auf einem Stativ mit einem Kugelgelenk nach allen Seiten beweglich angebracht (Fig. 92).

Litteratur: APÁTHY (Mikrotechnik, II, 1901, pag. 425—595), VAN HEURCK (Le Microscope, 1893, pag. 102—111), DALLINGER (CARPENTER, The microscope, 2. Aufl., 1891), HARTING (Mikroskop, 1866, Bd. 3, pag. 297 ff.), HOOKE (Mikrographia, 1665), HARTING (Mikroskop, 1866, Bd. 1, pag. 255), NELSON (Journ. Roy. Micr. Soc. (2) Bd. 4, 1884), MAYALL (NELSON-MAYALL lamp. Journ. Roy. Micr. Soc. (2) Bd. 4, 1884), FIDDIAN (Quat. Journ. Micr. Sc. N. S., Bd. VIII, 1868), KOCHS-WOLZ (Arch. mikr. Anat., Bd. 32, 1887), SCHIEFFERDECKER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), BÜRKNER (Zeit. wiss. Mikr, Bd. 4, 1887), GORING (citirt nach HARTING, Mikroskop, Bd. 1, 1866, pag. 250), DONNÉ und FOUCAULT (Bull. Soc. d'Encouragement, Sept. et Dec. 1845; DINGLER's Polytechnisches Journal, Bd. 100, 1846), VAN BEEK (Tydschr. voor de Wis- en Natuurkundige Wetenschapen, Bd. 1, 1848), TINE TAMMES (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 18, 1901), VAN HEURCK (Bull. Soc. Belge de Microsc., Bd. 8, 1882, Bd. 14, 1889; Moniteur industriel, 1882; Electricien, 1882; Journ. Roy. Micr. Soc. [2], Bd. 2, 1882; The Northern Microscopist, 1882; Journ. de Microgr., Bd. 7, 1883; Bd. 8, 1884; Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884; Bd. 6, 1889; Synopsis des Diatomées de Belgique, 1885), STEAM (Journ. R. Micr. Soc. [2.], Bd. 3, 1883), STEIN (Zeit. d. elektrotechn. Vereins z. Wien, Okt. 1883; Elektrot. Rundsch. Nr. 3, 1883; Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884; Das Licht im Dienste wissenschaftlicher Forschung. Halle 1885—86, pag. 218), STRASSBURGER (Gr. bot. Praktikum, 3. Aufl., 1897, pag. 26), POLL (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 18, 1901), HOBSON (Sci. Gossip., pag. 171 bis 172, 1883), VOIT (Officieller Bericht über die im Königl. Glaspalast zu München stattgehabte internationale Elektricitätsausstellung, pag. 236, 1883; Centralzeit. f. Opt. und Mech., Bd. 4, 1883), FLESCH (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), DAVIS (Micr. News. 3, 1883), COXETER und NEHMER (Journ. Roy. Univ. Soc. [2] Bd. 6, 1886), BECK (Journ. Roy. Micr. Soc. [2], Bd. 5, 1885), DIPPEL (Mikroskop, 1882, pag. 748 ff.), FLÖGEL (Zool. Anz., Bd. 6, 1883).

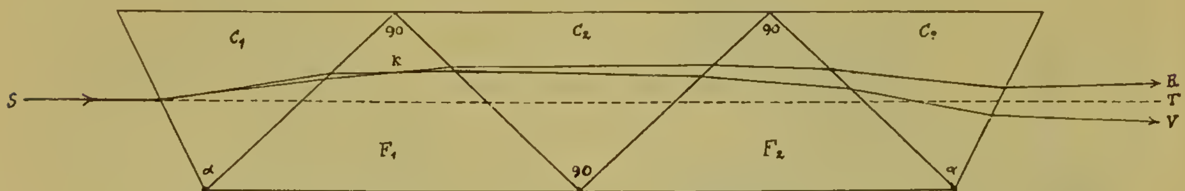
Poll, Berlin.

Mikrospektroskopie (Mikrospektralanalyse). Im engeren Sinne Untersuchung der Absorptionserscheinungen, welche mikroskopische Objekte im Spektrum hervorbringen; im weiteren Sinne überhaupt Beobachtung mikroskopischer Objekte im spektral zerlegten Lichte. Das Mikrospektroskop, zuerst von BROWNING und SORBY konstruirt, stellt im Wesen ein modificirtes Campanisches Okular dar (daher auch besser Spektralokular oder Spektrumokular genannt), welches in der Ebene der Blendung eine Spaltvorrichtung und über der Okularlinse ein zerstreuendes Prismensystem für gerade Durchsicht besitzt. Es wird an Stelle des gewöhnlichen Okulares auf den Tubus des Mikroskopes aufgesteckt und vermittelst eines Schräubchens (*M*, Fig. 98 *A*) festgemacht. Als geradsichtige Prismensysteme werden entweder kleine AMICI'sche oder JANSSEN'sche Kombinationen verwendet. Der gewöhnliche AMICI-Körper besteht aus zwei Crownglasprismen von — je nach den Brechungsquotienten der verwendeten Gläser — 60 bis 70° brechendem Winkel, zwischen welchen ein Flintglasprisma von 90° mit entgegengesetzt

gestelltem brechenden Winkel eingekittet ist. Der Längsdurchschnitt durch eine JANSSEN'sche Prismenkombination ist in Fig. 97 dargestellt. Sie besteht aus drei Crown- und zwei Flintglasprismen, welche mit abwechselnd entgegengesetzt gerichteten brechenden Winkeln an einander gekittet sind. Die mittleren drei Prismen haben brechende Winkel von 90°, der brechende Winkel α der beiden äusseren Crownglasprismen liegt zwischen 70 und 80°, je nach den Brechungsquotienten der verwendeten Glassorten. In die Figur ist der Strahlengang der rothen und violetten Strahlen, welche durch die Dispersion eines von S in der Richtung der Axe des Prismensystemes ST eindringenden Strahles weissen Lichtes entstehen, eingezeichnet. Im zweiten Prisma F_1 findet bei k eine Kreuzung der verschiedenfarbigen Strahlen statt, worauf die Dispersion bis zum Austritte fortwährend zunimmt; die austretenden Strahlen mittlerer Wellenlänge (T) verlassen das System in der Richtung der Axe.

Von den verschiedenen Formen von Mikrospektroskopen hat das Spektralokular von ABBE wegen seiner kompendiösen Form und zweckmässigen Einrichtung die meiste Verbreitung. Es ist in Fig. 98 A im Längsschnitte dargestellt. In dem zwischen der Kollektiv- und Okularlinse befindlichen erweiterten Gehäuse A ist unter einer kreisförmigen Blendung die Spaltvorrichtung angebracht, welche in Fig. 98 B in natürlicher Grösse von unten gesehen dargestellt ist. Die durch den Hebel G mit einander verbundenen Metallbacken B und C, welche an ihren einander zugewendeten genau parallelen Rändern die den Spalt begrenzenden s'GRAVESANDE'schen Schneiden bilden, können ver-

Fig. 97.



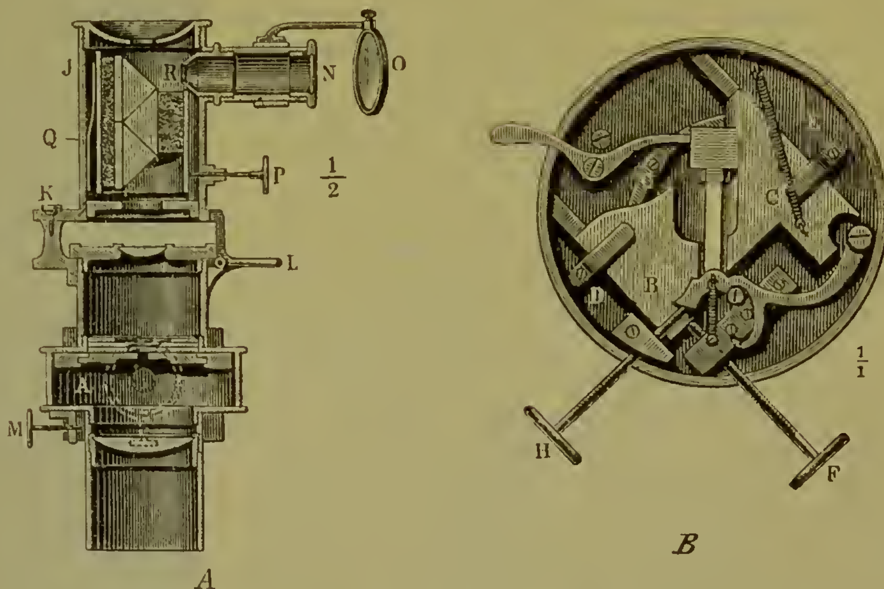
mittelst der Schraube F zwischen den Führungen D und E symmetrisch gegen und von einander bewegt werden, so dass die Mitte des Spaltes bei jeder Weite desselben ihre Lage in der Mitte des Gesichtsfeldes beibehält. Vermittelst der Schraube H kann die Länge des Spaltes durch Vorschieben des halbrunden Backens von unten her verändert werden. Vor der oberen Spalthälfte (Fig. 98 B) kann mit dem über G sichtbaren Hebelchen ein kleines Vergleichsprisma ein- und ausgelegt werden, welches sein Licht von einem seitlich angebrachten Spiegelchen durch eine im Gehäuse A entsprechend angebrachte Oeffnung (in Fig. 98 A sind Oeffnung und Spiegel unterhalb des Spaltes angedeutet) erhält. Vor dieser Oeffnung ist ein kleines Objekttischchen angebracht, auf welches zum Vergleiche verwendete lichtabsorbirende Substanzen in kleinen Proberöhrchen (als Lösungen) oder auch auf Objektträgern aufpräparirt aufgebracht werden können. Bei Verschluss der seitlichen Oeffnung des Gehäuses A kann das mit der Hypotenusenfläche auf einem geschwärzten Metallplättchen aufgekittete Vergleichsprisma auch zweckmässig nur zur Abdeckung der oberen Spalthälfte gegen das vom Objekte kommende Licht benützt werden. Zur scharfen Einstellung für das beobachtende Auge ist die Okularlinse durch Verschieben höher und tiefer einzustellen.

Als Prismensystem wird beim ABBE'schen Spektralokulare ein AMICI-Körper von grosser Dispersion verwendet, welcher in der Hülse J um den Zapfen K drehbar angeordnet ist und so leicht seitlich ausgelegt oder über dem Okulare eingelegt und mittels der Sperrklinke L festgestellt werden kann. An dem Obertheile J ist endlich noch der obersten Prismenfläche

gegenüber das Skalenrohr *RN* seitlich angebracht. Auf dem Plättchen *N*, das vermittelst des kleinen Spiegels *O* beleuchtet wird, ist eine ANGSTRÖM-sche Skala angebracht, welche die Wellenlängen in jedem Theile des Spektrums in Bruchtheilen von Mikren direkt abzulesen gestattet. Zu diesem Zwecke wird sie mit dem einstellbaren Objektive *R* und durch Reflexion an der obersten Prismenfläche in das Spektrum entworfen. Diese Skala ist in Fig. 99 stark vergrössert dargestellt. Die Zahlen bedeuten (Bruchtheile von) Mikren; Millionstel Millimeter können namentlich von Grün gegen Violett hin noch leicht geschätzt werden. Wenn das Instrument richtig justirt ist, muss die *D*-Linie mit dem Theilstriche 0,589 der Skala zusammenfallen. Diese Stelle ist in obiger Figur durch die punktirte Linie *DD'* angezeigt. Um die *D*-Linie genau einzustellen, kann das AMICI'sche Prismensystem vermittelst der Schraube *P* (Fig. 98 *A*) und der gegenwirkenden Feder *Q* ein wenig gegen die Axe des Mikroskopes geneigt werden.

Zur Beleuchtung wird bei mikrospektroskopischen Untersuchungen gewöhnlich zerstreutes Tageslicht oder besser Sonnenlicht verwendet, das

Fig. 98.

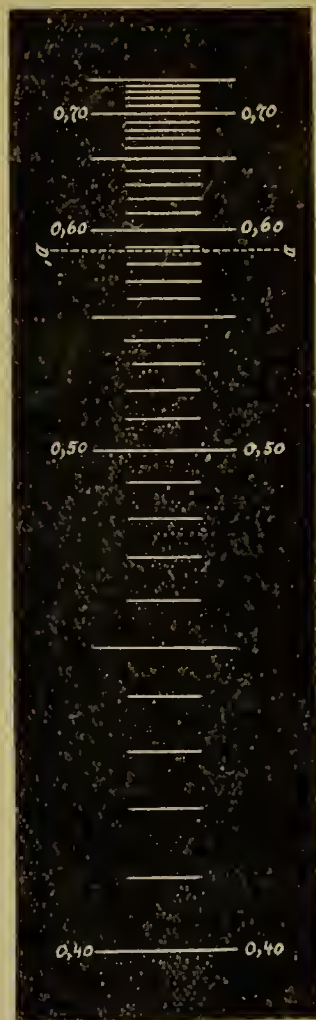


man auf eine vor dem Spiegel des Mikroskopes aufgestellte Mattscheibe fallen lässt: man kann im letzteren Falle, zum Vortheile der Schärfe des Spektrums, den Spalt sehr eng machen; Längsstreifen, die dabei im Spektrum auftreten, rühren von Staubkörnchen an den s'GRAVESANDE'schen Schneiden her, welche dann mit einem feinen Pinsel gereinigt werden müssen. Bei mikrospektroskopischen Untersuchungen ist alles falsche Licht äusserst störend. Ein grosser Kartonschirm vor dem Mikroskope, der nur unten eine Oeffnung für das auf den Spiegel des Mikroskopes auffallende Licht trägt, thut meist schon recht gute Dienste. Um in dunkleren Absorptionsspektren, namentlich ganz schmalen solchen (s. unten), noch Einzelheiten zu erkennen, muss man sich weiter durch Vorhalten der Hand vor das beobachtende Auge, Ueberhängen eines Tuches, Anstellung der Beobachtung im Dunkelkasten oder Dunkelzimmer, namentlich aber auch durch Dunkeladaptation und öfteres Ausruhen des Auges zu helfen suchen.

Anwendungsweisen des Spektralokulares. Das Spektralokular kann zur Anstellung vieler Beobachtungen über Absorptionserscheinungen benützt werden, welche sonst mit einem gewöhnlichen Spektroskope vorgenommen werden; seine eigentliche Bestimmung liegt in der Untersuchung

von Absorptionserscheinungen mikroskopischer Objekte im Mikrospektrum. Hat man nur eine homogene durchsichtige oder durchscheinende Masse zu untersuchen oder eine Suspensionsflüssigkeit, deren Färbung durch sehr zahlreiche, gleichmässig in ihr vertheilte lichtabsorbirende Partikel bedingt ist (z. B. Blut), so wird in folgender Weise vorgegangen: Man bringt entweder gar kein oder ein ganz schwaches Objektiv am Mikroskope an. Der Spalt wird möglichst eng und in der Sagittalrichtung des Beobachters eingestellt, das Prismensystem eingeklappt und das Sonnenspektrum (durch Verschieben der Okularlinse), sowie eventuell die Skala, scharf eingestellt. Hierauf kommt die zu untersuchende Flüssigkeit oder Masse in einem flachen Schälchen oder auf einem Objektträger aufpräparirt auf den Objekttisch des Mikroskopes; die Blendung des Beleuchtungsapparates wird ganz geöffnet. In Schalen kann man leicht die Spektren verschieden dicker Schichten rasch nach einander beobachten. Wenn man eine stärker lichtabsorbirende Flüssigkeit auf dem Objektträger aufpräparirt, ist es zweckmässig, sich gleich eine keilförmige Schichte derselben herzustellen, indem man das Deckglas durch einen auf einer Seite unterlegten Glassplitter oder angelegten Paraffinstreifen schief stellt, um dann rasch nach einander die Spektren einiger verschieden dicker Schichten beobachten zu können (für Blut sehr zu empfehlen). — Nachdem das Präparat auf den Objekttisch des Mikroskopes gebracht ist, wird der Tubus so weit gesenkt, dass sich das Objektiv (oder das untere Tubusende, wenn kein Objektiv benutzt wird) knapp über dem Präparate befindet, jedoch so, dass dasselbe, falls man es mit einer Suspensions- oder sonst inhomogenen Flüssigkeit zu thun hat, keinesfalls scharf eingestellt wird. In diesem Falle würde nämlich infolge der ungleichmässigen Lagerung und Lichtbrechungsverhältnisse der im Spalte abgebildeten Partikel oder sonstigen Inhomogenitäten das Spektrum äusserst ungleichmässig beleuchtet und von zahlreichen störenden dunklen Längsstreifen durchzogen erscheinen.

Fig. 99.



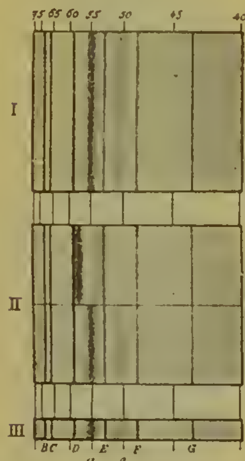
Das Spektrum erscheint im Mikrospektroskope verhältnissmässig wenig ausgedehnt, namentlich gegen das rothe Ende zu; es stellt sich etwa nach Art der schematischen Fig. 100, *I* dar. In der Figur sind die Wellenlängen und die Fraunhofer'schen Linien verzeichnet, das rothe Ende des Spektrums ist links, das violette rechts gelegen.

In dem Spektrum *I* wäre beispielsweise ein schmaler, scharf begrenzter, dunkler Absorptionsstreifen α zwischen den Fraunhofer'schen Linien *D* und *E*, die Mitte entsprechend der Wellenlänge 0,550 μ, und ein breiterer, weniger scharf begrenzter und weniger dunkel erscheinender Absorptionsstreifen β zwischen *E* und *F*, die Mitte entsprechend der Wellenlänge 0,500 μ, hervorzuheben. Ausserdem ist eine schwache Verdunkelung des violetten Endes des Spektrums bis gegen 0,45 μ und eine ebensolche des rothen Endes bis gegen 0,68 μ zu verzeichnen. Hiebei möge erinnert werden, dass dunkler erscheinende Absorptionsstreifen im Spektrum nicht immer stärkeren Lichtabsorptionen entsprechen müssen, da ihre scheinbare Dunkelheit vom Kon-

traste mit nebenliegenden hellen Farben (z. B. Gelb oder Gelbgrün), zum Theile wohl auch von der Schärfe ihrer Begrenzung beeinflusst werden kann. In Fig. 100, *II* ist dasselbe Spektrum (untere Hälfte) wie in *I*, jedoch mit einem darüber (obere Hälfte) entworfenen Vergleichsspektrum einer ähnlich gefärbten Flüssigkeit dargestellt, welche letztere auf das am Spektralokulare angebrachte Vergleichstischchen aufgebracht worden ist. Die beiden — sonst ähnlichen — Absorptionsstreifen der zu untersuchenden Flüssigkeit liegen ersichtlich in Regionen von anderen (niedrigeren) Wellenlängen, als die der Vergleichsflüssigkeit, sie erscheinen gegen Violett verschoben: die beiden Farbstoffe sind daher nicht identisch.

Bei der Untersuchung von Absorptionsspektren einzeln liegender mikroskopischer Partikel oder bestimmter Theile von Geweben — das eigentliche Feld des Spektralokulares — wird in folgender Weise vorgegangen: Es wird zunächst das zu untersuchende Präparat bei passender Vergrösserung und möglichst voller Beleuchtung, während das Prismensystem ausgeklappt und der Spalt weit geöffnet ist, wie mit dem gewöhnlichen Mikroskope eingestellt und ein möglichst grosses, homogenes und nicht zu stark gefärbtes Partikel (oder ein ebenso beschaffener Theil des Gewebes oder Schnittes) in die Mitte des Gesichtsfeldes und mit seiner grössten Dimension wo möglich in die Richtung des Spaltes gebracht. Hierauf werden die s'Gravesande'schen Schneiden gegen einander bewegt und der Spalt vollständig verengt; man überzeugt sich, ob das gewünschte Partikel wirklich vor einem Theile des Spaltes liegt. Nun wird zunächst durch Einschalten des Vergleichsprismas (bei geschlossener Oeffnung des Gehäuses) die obere Spalthälfte bis zum Rande des Partikels abgedeckt. Hierauf wird durch den dazu dienenden Schieber auch die untere Spalthälfte so weit verkürzt, dass auch unter (neben) dem Partikel kein anderes (weisses) Licht mehr vorübergeht. Es ist jetzt von der ursprünglichen Länge des Spaltes nur mehr ein ganz kurzes, der Grösse des Partikels entsprechendes Stück übrig geblieben. Nun erst wird das Prismensystem eingeklappt und damit das farbige Spaltbild zum Absorptionsspektrum aufgelöst. Dieses stellt sich entsprechend der geringen Höhe des Spaltes als ganz schmales Band, entsprechend der Fig. 100, *III* dar, in welchem aber die Absorptionserscheinungen unter sonst günstigen Verhältnissen noch gut wahrzunehmen sind, weil man von keinem daneben passirenden hellen Lichte gestört ist. Immerhin gehören die Bestimmungen dieser schmalen Absorptionsspektren zu den schwierigeren mikrospektroskopischen Untersuchungen. Ist die Dunkelheit des solchergestalt erhaltenen Absorptionsspektrums im ganzen zu gross, so kann man versuchen, den Spalt ein wenig zu erweitern, oder man nimmt helleres Licht zur Beleuchtung, wenn solches verfügbar ist, oder man muss schliesslich eine andere, geeignetere Stelle des Präparates aufsuchen.

Fig. 100.

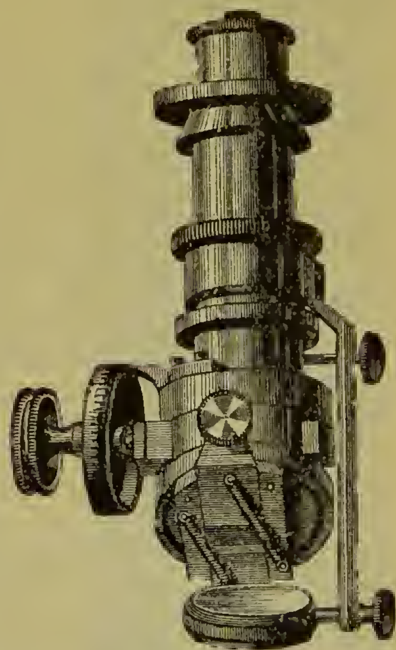


Mikrospektroskopische Messungen können sich entweder auf die Bestimmung der genauen Lage beobachteter Lichtabsorptionen im Spektrum oder auf Messungen der Stärke der Lichtabsorptionen erstrecken. Die ersteren Bestimmungen können in beiläufiger, jedoch für viele Zwecke hinreichender Weise nach der Lage zu den Fraunhofer'schen Linien, genauer jedoch mit Verwendung des beschriebenen Angström'schen Massstabes mit dem Abbe-schen Spektralokulare ausgeführt werden. Zur annähernden Messung der Stärke von Lichtabsorptionen mit dem Spektralokulare, auf welche es wohl selten ankommen wird, hat Wälchli ein einfaches Verfahren angegeben,

welches auf der Verwendung des Vergleichsspektrums und Beleuchtung desselben mittels einer in veränderlicher Entfernung angebrachten Normalkerze beruht. Das Verfahren ist bei DIPPEL näher auseinandergesetzt. Zur genaueren quantitativen Mikrospektralanalyse dient das Mikrospektrometer oder Mikrospektralphotometer von ENGELMANN, welches an Stelle des gewöhnlichen Spektralokulares verwendet wird. Das Princip des Apparates ist wesentlich das des VIERORDT'schen Spektrophotometers; die Messung erfolgt also in der Weise, dass man durch Aenderung der Spaltweite die Helligkeit eines Vergleichsspektrums nach einander an den verschiedenen Stellen des Spektrums der Helligkeit des zu untersuchenden Spektrums gleich macht, das bei gleichbleibender Spaltweite eingestellt ist. Aus dem Verhältnisse der beiden bekannten Spaltweiten ergiebt sich dann unmittelbar das Verhältniss der Lichtstärken beider Spektren, somit auch der Grösse der Lichtabsorption an den einzelnen verglichenen Stellen. (Näheres s. Litteratur.)

Verwendung des objektiven Spektrums. Im Anhange sollen hier noch kurz die Apparate Erwähnung finden, welche dazu dienen, das Sonnenspektrum in die Objektebene zu projiciren, um das Verhalten mikroskopischer Objekte im ganzen Spektrum oder in monochromatischem Lichte zu untersuchen. Für den ersteren Zweck ist das Mikrospektralobjektiv von ENGELMANN besonders bestimmt, welches in Fig. 101 abgebildet ist. Dasselbe wird unterhalb des Objekttisches mittels eines entsprechenden Centrirkopfes senkrecht in das Gestell des ABBE-schen Beleuchtungsapparates eingesetzt, und durch Verstellen in der Höhe wird das kleine Spektrum scharf in die Objektebene entworfen.

Fig. 101.



Der am unteren Ende des Apparates sichtbare Spaltmechanismus wird durch eine mit Trommeltheilung versehene Schraube eingestellt. Die s'GRAVESANDE'schen Schneiden besitzen wie beim Spektralokulare symmetrische Bewegung. An der Trommel kann die Spaltweite in Hundertelmillimetern abgelesen werden; ausserdem ist der Spalt auch beiderseitig in seiner Länge regulirbar. Die Beleuchtung erfolgt am besten mit Sonnenlicht vermittelst des unter dem Spalte angebrachten, allseitig beweglichen Spiegelchens. Im Inneren der Röhre des Apparates befindet sich die Kollimatorlinse und darüber ein AMICI'sches Prismensystem. Durch über diesem mit dem engen Gewinde der Linsenfassungen aufzuschraubende gewöhnliche Mikroskopobjektive schwächerer Vergrösserungen wird das Spektrum in der jeweilig erforderlichen Grösse in die Objektebene projicirt. Unter Ersatz des AMICI'schen Prismensystems durch ein Beugungsgitter kann der Apparat auch zur Erzeugung eines mikroskopischen Interferenzspektrums, mit den Wellenlängen proportionaler Ablenkung der einzelnen Farben, eingerichtet werden. Mit dem Mikrospektralobjektive hat zuerst ENGELMANN seine Studien über die relative Grösse der Sauerstoffausscheidung chlorophyllhaltiger Zellen in den verschiedenen Theilen des Spektrums vermittelst der Bakterienmethode angestellt.

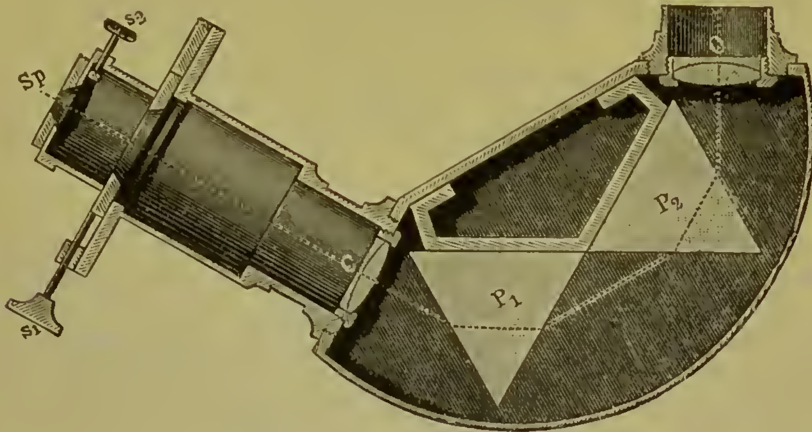
Unter Verwendung stärkerer Projektionslinsen kann der ENGELMANN-sche Apparat auch zur Erleuchtung des ganzen Gesichtsfeldes in einer Spektralfarbe benützt werden. Ausschliesslich für diesen Zweck bestimmt und durch grössere Lichtstärke ausgezeichnet ist HARTNACK's Beleuchtungs-

apparat für monochromatisches Licht. Derselbe ist in Fig. 102 im Längsschnitte dargestellt. Er wird mit dem das Objektiv *O* tragenden Ansatze in den Schlitten für die Cylinderblendung oder in den Centrirkopf des ABBE'schen Beleuchtungsapparates eingesetzt.

Von dem Spalte *Sp* wird unter Vermittlung der Kollimatorlinse *C* durch die beiden schweren Flintglasprismen P_1 P_2 ein Spektrum von grosser Länge erzeugt, welches durch das Objektiv *O* in die Objektebene projicirt wird. Durch Verschieben des Spaltaufsatzes vermittelst der Schraube s_1 können die verschiedenen Farben des Spektrums nach einander in das Gesichtsfeld des Mikroskopes gebracht werden. Durch die Schraube s_2 wird die Weite des Spaltes und damit die Helligkeit der Beleuchtung verändert; die Beleuchtung erfolgt auch hier am besten mit direktem Sonnenlichte.

Endlich kann sowohl zur Projektion eines kleinen objektiven Spektrums in die Objektebene, als auch zur Beleuchtung des ganzen Gesichtsfeldes mit durch spektrale Zerlegung gewonnenem monochromatischem Lichte auch der Spektropolarisator verwendet werden (vergl. Artikel »Polarisationsmikroskop« unter »Spektropolarisator«); zu diesem Behufe braucht nur das polarisirende HARTNACK-PRAZMOWSKI'sche Prisma ausgelegt, das Gypsplättchen entfernt

Fig. 102.



und die Projektion des Spektrums nach Bedarf mit einem schwächeren oder stärkeren Objektive vorgenommen werden.

Litteratur: L. DIPPEL (Handbuch der allgem. Mikroskopie. Braunschweig, Vieweg), L. PFAUNDLER (Lehrbuch der Physik und Meteorologie, Bd. 2, Optik; Braunschweig, Vieweg), TH. W. ENGELMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888; PFLÜGER's Arch., Bd. 27, 1882).

Zoth, Graz.

Mikrotom. Als die anatomische Forschung anfing, des Mikroskops sich zu bedienen, um auch die feinere Struktur der Gewebe und Organe kennen zu lernen, da war zunächst ihr Ziel, die Zusammensetzung derselben kennen zu lernen. Durch Maceration, Zerzupfen u. s. w. versuchte man das Objekt möglichst in seine der mikroskopischen Untersuchung zugänglichen Einheiten, also in Zellen, Fasern u. s. w. zu zerlegen. Bald aber ging man weiter und das Bestreben war dahin gerichtet, den Zusammenhang dieser einzelnen Theile, ihre gegenseitigen Lagebeziehungen zu erkennen. Man sah sich vor die Aufgabe gestellt, einmal den Zusammenhang nebeneinanderliegender Theile möglichst wenig zu stören, andererseits aber das Objekt für die mikroskopische Untersuchung geeignet zu machen. Dies war nur dadurch zu erreichen, dass man von solchen Objekten, die an sich nicht dünn genug waren, um den Lichtstrahlen Durchtritt zu gewähren, feine Schnitte anfertigte. Je nach den Umständen geschah dies mit dem Skalpell, dem Rasier- oder dem Doppelmesser. Speciell mit den beiden letzteren ge-

lang es durch hinreichende Uebung, ziemlich grosse, für die mikroskopische Untersuchung geeignete Schnitte herzustellen.

Aber auch bei der grössten Uebung und Geschicklichkeit war es nicht möglich, die Schnitte in ihrem ganzen Umfang gleichmässig dick zu erhalten, oder mehrere auch nur annähernd gleich dicke Schnitte hintereinander vom selben Objekte herzustellen, was für viele Untersuchungen von Wichtigkeit war. Sehr frühzeitig hat man darum auch angefangen, besondere Instrumente zum Herstellen gleichmässiger Schnitte zu konstruiren, die Mikrotome. Anfänglich einfach und wenig in Gebrauch, haben sie sich nach der allgemeineren Einführung der Fixirungs- und Einbettungsmethoden mehr und mehr eingebürgert und vervollkommnet. Zu ihrer Verbreitung trug auch der Umstand viel bei, dass die Herstellung der Schnitte schnell und ohne grosse Mühe erfolgt, so dass die mechanische Thätigkeit zu Gunsten der eigentlichen Untersuchung eingeschränkt werden konnte.

Ganz besonders aber die modernen Anforderungen an lückenlose, gleichmässige Serien, oft von mehreren hundert Schnitten, sowie die Nothwendigkeit, zur Erforschung der feinsten Zellstrukturen Schnitte bis zu 1 μ zu erhalten, sind die Veranlassung zu immer neuen Verbesserungen gewesen. Auf diese Weise sind die Mikrotome heutigentags gewissermassen zu Präcisionsmaschinen geworden.

Ein grosser Theil der jetzt gebräuchlichen Mikrotome lässt sich auf zwei Grundtypen zurückführen, nämlich auf das Ranvier'sche und das Rivet'sche Mikrotom.

Das Ranvier'sche Mikrotom in seiner einfachsten Gestalt besteht aus einem Cylinder, in den das Präparat eingelassen wird. Dieser Cylinder steckt in einer genau passenden Hülse, die oben mit einer Glas- oder glatten Metallplatte versehen ist.

Die Höhenstellung des Cylinders und damit auch die Grösse des Präparatentheils, der über die Platte hinausragt, wird durch eine von unten her wirkende Schraube regulirt. Geschnitten wird, indem das Messer auf die Platte aufgelegt und über sie hinweggezogen wird. Der über die Platte vorstehende Theil des Präparats wird auf diese Weise abgeschnitten. Durch weitere Drehung der Schraube, die mittels einer Gradeintheilung ja leicht jedesmal gleichmässig vorgenommen werden kann, wird das Objekt wieder etwas über die Platte herausgehoben; die Schnitte fallen auf diese Weise gleichmässig aus und können auch stets in annähernd derselben Dicke erhalten werden. Das Instrument wird in verschiedenen Grössen ausgeführt und hat auch noch verschiedene kleine Modifikationen erfahren.

So wird es entweder so stabil gebaut, dass es fast auf dem Tisch steht, oder es ist zum Anschrauben an letzteren eingerichtet. Bei einer Abart wird nicht das Objekt in die Höhe gehoben, sondern die Führungsplatte entsprechend heruntergeschraubt.

Bei anderen Abänderungen wird das Objekt in dem Cylinder mittels einer Klammer festgehalten. Bei dem Leitz'schen Mikrotom dient zur Führung des Messers nicht eine Platte, sondern zwei planparallele Glasbahnen.

Ganz grosse Instrumente nach diesem Princip sind von Gudden konstruirt, die wesentlich für etwas dickere Schnitte durch das Centralnervensystem bestimmt sind. Um ein Zerreissen dieser manchmal sehr grossen Schnitte — die grössten Mikrotome gestatten Schnitte durch ein ganzes menschliches Gehirn —, möglichst zu verhüten, sind diese Mikrotome in dem Boden einer grossen flachen Wanne eingelassen, so dass die Anfertigung des Schnittes ganz unter Wasser, bezw. Alkohol stattfinden kann.

Beim Rivet'schen Mikrotom wird das Messer nicht aus freier Hand geführt, sondern es ist auf einem Metallkeil festgeschraubt. Ebenso wird das zu schneidende Objekt mittels einer Klammer auf einem Metallkeil befestigt. Das Mikrotom selbst besteht aus einem länglichen Metallklotz, an dessen beiden Seiten sich der ganzen Länge nach je ein dreieckiger Ausschnitt hinzieht, in welche die Metallkeile genau eingepasst sind. Der für den Messerkeil bestimmte Ausschnitt läuft horizontal, während der andere von vorne nach hinten ansteigt. Die Metallkeile sind in den Ausschnitten leicht ver-

schieblich. Durch Verschieben des Keils für das Objekt lässt sich leicht die Stelle finden, an der die Messerschneide gerade das Objekt berührt. Schiebt man noch etwas höher, so wird man beim Vorziehen des Messers einen Schnitt von dem Objekt abtragen.

Mit Hilfe einer seitlich angebrachten Skala lässt sich das Hinaufschieben des Keils und damit die Hebung des Objekts gleichmässig gestalten. Ist ferner der Steigungswinkel der Objektbahn bekannt, so lässt sich auch leicht berechnen, welche Schnittdicke je einem Theilstrich der Skala entspricht.

Diese Art der Messerführung ist bei den meisten modernen Instrumenten in Anwendung genommen; es wird der das Messer tragende Keil als Messerschlitten bezeichnet, woher diese Art der Mikrotome als Schlittenmikrotome bezeichnet wird. Dagegen findet bei ihnen sowohl die senkrechte Hebung des Objekts als auch die Hebung durch Bewegung auf einer schiefen Ebene Anwendung. Beide Arten haben ihre Vor und Nachtheile. Doch sind auch eine ganze Reihe von Mikrotomen konstruirt, die eine andere Art der Messerführung besitzen, oder bei denen das Objekt am feststehenden Messer vorbeigeführt wird. Mit der Anfertigung von Mikrotomen befassen sich viele leistungsfähige Firmen, von denen die folgenden in Deutschland wohl die bekanntesten sind: Altmann (Berlin), Becker (Göttingen), Jung (Heidelberg), Miehe (Hildesheim), Reichert (Wien), Schanze (Leipzig) und Zimmermann (Leipzig).

Im folgenden sollen einige der verbreitetsten Mikrotomtypen, sowie die dazu gehörigen Nebenapparate etwas genauer besprochen werden.

Mikrotome mit schräger Hebung des Objekts. Das Mikrotom mit schräg aufsteigender Objektschlittenbahn hat besonders durch Prof. Thoma viele Verbesserungen erfahren. Ein relativ einfaches derartiges Instrument stellt Fig. 103 dar, wie es von Jung angefertigt wird.

Zur Erzielung einer grossen Stabilität ist das Instrument auf einer Metallplatte befestigt. Die Platte, sowie die anderen Metalltheile sind zum Schutz gegen Rost entweder vernickelt oder aus Bronze hergestellt. In der Abbildung ist es so aufgestellt, dass die schräg ansteigende Objektschlittenbahn dem Beschauer zugekehrt ist. Die horizontale Messerschlittenbahn ist nicht sichtbar, doch erblickt man noch den oberen Theil des Messerschlittens mit dem durch eine Flügelschraube befestigten, schräggestellten Messer nach Thoma (s. u.).

Auf der vorderen Gleitbahn stellt *OS* den über die Bahn hinausragenden oberen Theil des Objektschlittens dar. An dem mit diesem fest verbundenen Stift *B* wird der Objekthalter *H* mittels der Schraube *b* befestigt und kann so je nach der Höhe des Objekts *O* höher oder niedriger gestellt werden. Man kann nun den Objektschlitten mit der Hand vorwärts schieben und wird dies auch thun, bis er die Stellung erlangt hat, in der das Messer das Objekt eben angreift. Zur weiteren Hebung aber verwendet man die an allen modernen Instrumenten angebrachte Mikrometerschraube, die rechts vom Objektschlitten abgebildet ist. Sie ist auf einem kleinen Schlitten mit zwei Stützen derart angebracht, dass sie nach dem Aufsetzen des Schlittens genau parallel zur Objektschlittenbahn steht. Um sie bequem handhaben zu können, ist an ihrem hinteren Ende eine kleine geriefte Scheibe angebracht. Man schiebt sie so weit vor, dass ihre Spitze genau den Objektschlitten berührt, und schraubt dann ihren Schlitten mittels der Schraube *Sch* an der Objektbahn fest. Dreht man sie nun vorwärts, so wird der Objektschlitten auf der Bahn höher geschoben.

Auf diese Weise ist ein viel exakteres Vorschieben möglich, als wenn die Grösse der Verschiebung mit Skala und Nonius bestimmt wird. Um ein genaues Mass für die Hebung des Objekts zu haben, ist an der Mikrometerschraube noch ein Rädchen befestigt, das eine Anzahl von Einkerbungen zeigt (bei den Jung'schen Instrumenten meist 15).

Die Höhe des Schraubenganges ist nun so bemessen, dass eine volle Umdrehung den Objektschlitten um so viel verschiebt, dass das Objekt um 15 μ gehoben wird. Eine Drehung der Schraube also von einer Einkerbung bis zur nächsten hebt das Objekt um 1 μ. Um das Auge bei der Einstellung nicht unnöthig zu belasten, sind die grösseren Instrumente noch mit einer Einschnappvorrichtung versehen, so dass durch das Gehör und das Gefühl festgestellt werden kann, wenn jedesmal die Schraube um einen Theilstrich weiter gedreht worden ist.

Um bei dickeren Schnitten nicht nach einzelnen Mikren zählen zu müssen, kann die Einschnappvorrichtung auch auf $^{1}/_{3}$, $^{1}/_{2}$ und $^{1}/_{1}$ Umdrehung der Schraube eingestellt werden, also auf eine Hebung des Objekts um 5, $7^{1}/_{2}$ und 15 μ.

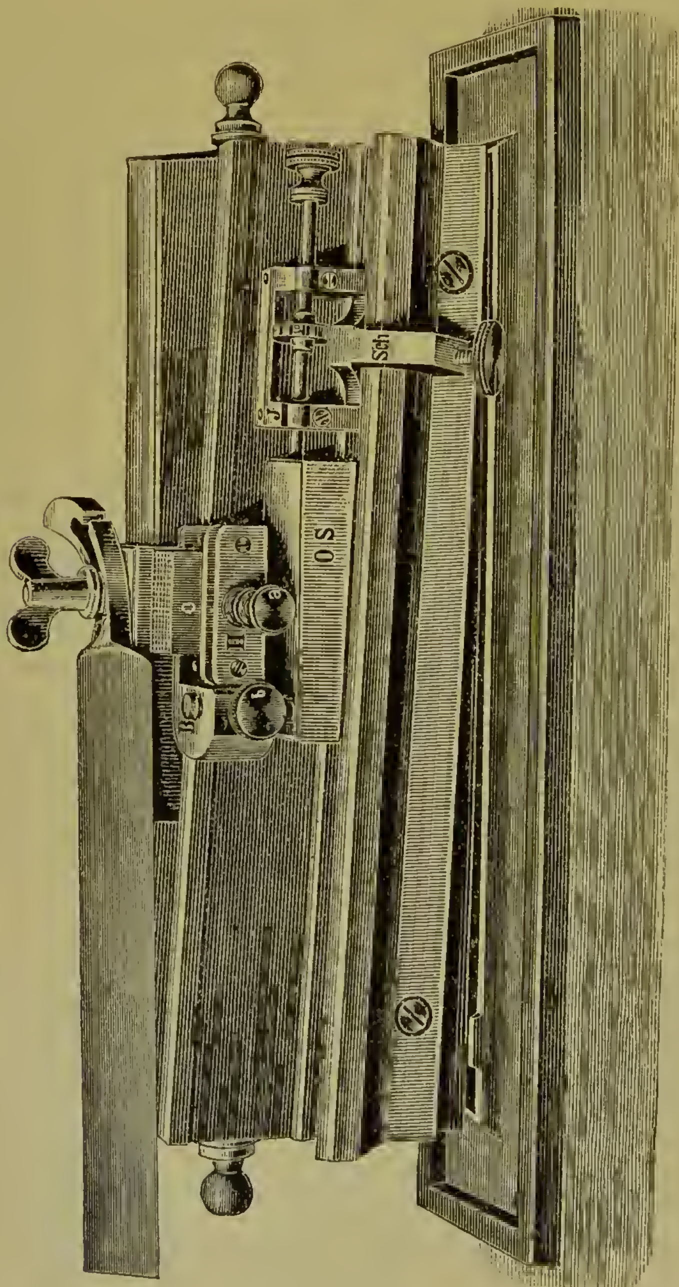
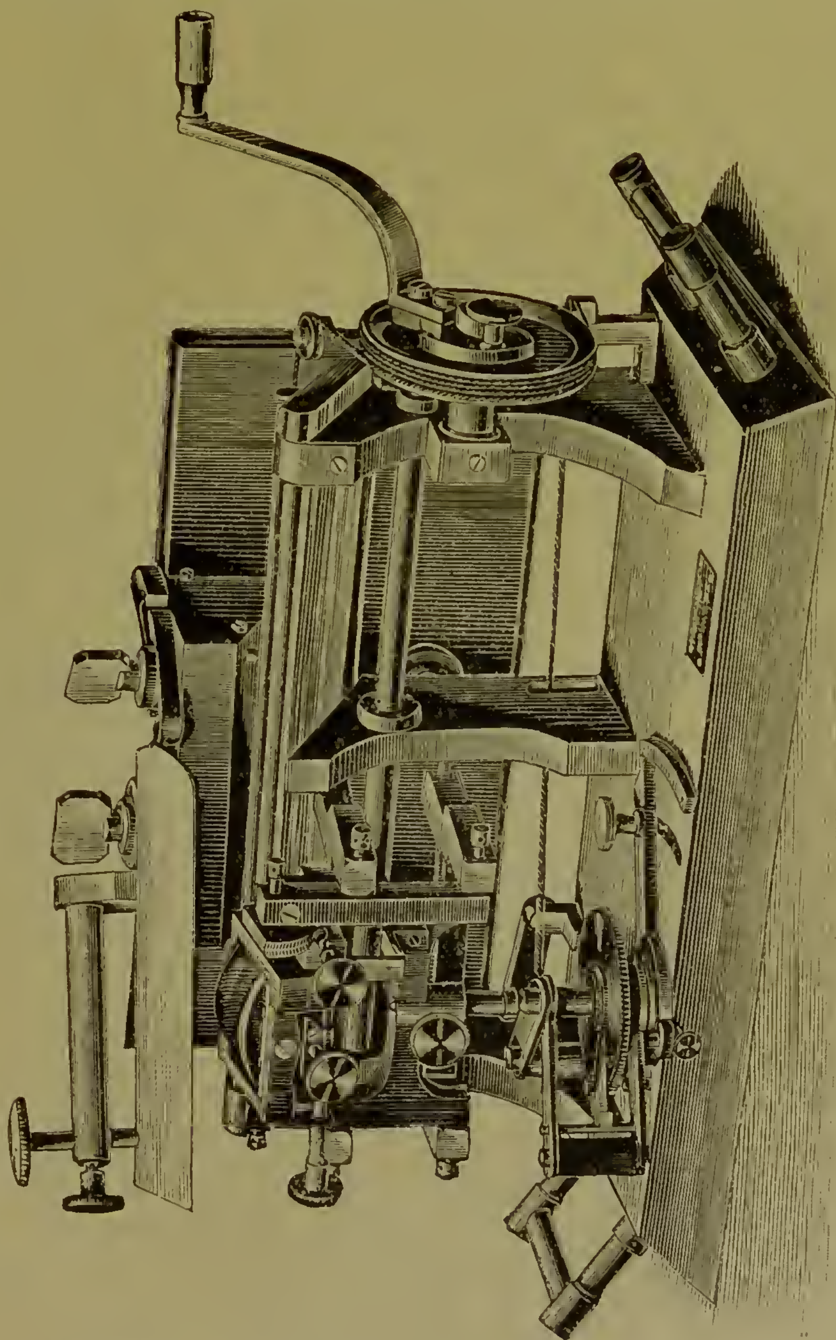


Fig. 103.

Von weiteren Einzelheiten ist zu bemerken, dass die Schlitten nicht die ganze Bahn berühren, sondern dass sie auf je drei Schienen laufen. Und auch diesen liegen sie nicht voll auf, sondern gleiten auf Metall- oder Elfenbeinfüsschen. Meist werden deren 5 angebracht, da mit dieser Zahl die grösste Gleichmässigkeit im Lauf erzielt werden soll.

Die von anderen Firmen konstruirten Mikrotome mit schräger Hebung des Objekts sind im allgemeinen ganz ähnlich gebaut. Eine bemerkenswerthe Abänderung ist indessen von Reichert getroffen worden. Die schiefe Ebene zur Hebung des Objekts ist erheblich kürzer, dafür aber umso steiler. Der

Objektschlitten läuft nicht lose, sondern wird zwischen zwei Metallschienen festgehalten (sog. Schwalbenschwanzführung). Die grobe Einstellung des Objekts geschieht nicht durch Verschieben des Objektschlittens, sondern die Objektklammer ist durch Zahn und Trieb senkrecht verstellbar. Die Mikrometerschraube läuft nicht auf einem Schlitten, sondern liegt fest. Zur grösseren Bequemlichkeit ist sie so eingerichtet, dass sie nach Beendigung ihres Weges nicht zurückgedreht zu werden braucht, sondern einfach um 180° gedreht


Fig. 104.

wird, so dass jetzt das andere Ende dem Schlitten zugekehrt ist. Da sie den Schlitten im ganzen etwa um 25 Mm. vorwärts bewegt, so muss nach dem Umdrehen der Schlitten wieder zurückgeschoben werden. Die dadurch entstehende Höhendifferenz von etwa 7 Mm. zwischen Objekt und Messer wird dann mittels des Triebes wieder ausgeglichen.

Das Princip der festen, um 180° drehbaren Mikrometerschraube ist auch von Becker, und zwar bei der gewöhnlichen Lage der Objektschlittenbahn, angewandt worden. Um den

Objektschlitten nach dem Umdrehen der Schraube nicht zurückschieben zu müssen, greift die Schraube an diesen nicht direkt an, sondern durch Vermittlung eines in der Längsrichtung der Bahn verschieblichen und in der gewünschten Lage mittels einer Klemmschraube am Schlitten zu fixirenden Stabes.

Schlittenmikrotome mit senkrechter Hebung des Objekts. Als Typus der anderen Art von Schlittenmikrotomen, nämlich derjenigen mit senkrechter Hebung des Objekts, mag ein solches von Becker beschrieben werden (Fig. 105). Zur Grundlage dient auch hier eine schwere Metallplatte. Da nur eine Schlittenbahn erforderlich, so konnte ein Theil des Metalloberbaues entfallen und ist nur durch drei solide Metallsäulen ersetzt. Die Schlittenbahn ist bei dem Becker'schen Instrument nicht aus Metall, sondern besteht aus zwei in geneigtem Winkel gegeneinander geneigten dicken Spiegelglasplatten. Der Schlitten gleitet auf diesen mittels feiner Elfenbeinfüsschen, die mit etwas Paraffinum liquidum benetzt werden.

Die Hebung des Objekts wird durch eine Parallelogrammverschiebung bewirkt. Zur grösseren Schonung der Mikrometerschraube, damit sie nicht bei verschieden hohen Objekten, die man nach einander zu schneiden hat, jedesmal entsprechend gestellt zu werden braucht und so unnöthig abgenützt wird, greift diese nicht direkt an den Objekthalter an, sondern mittels eines verschieblichen Stabes. Da eine auch nur geringe Drehung der Schraube bei dieser Konstruktion bereits eine deutliche Hebung des Objekts bewirkt, ist sie mit einer grossen gezähnten Scheibe versehen. Diese wird entweder mit der Hand gedreht, wobei mittels einer Gradeintheilung und eines Zeigers bequem die Grösse der Drehung ersehen werden kann, oder es ist eine Anschlagvorrichtung angebracht, die bei verschiedener Einstellung die Drehung der Schraube mit Hilfe eines in die Zähne einfassenden Hebels jeweils um einen bestimmten Grad gestattet.

Die senkrechte Hebung des Objekts wird auch von Schanze und Miehe angewandt. Die Schlittenbahn besteht bei diesen auch aus Metall. Die Führung des Objekthalters geschieht nicht durch Parallelogrammverschiebung, sondern mittels Schwalbenschwanzführung. Bei einem Theil der Instrumente kommt die letztere auch für den Messerschlitten in Anwendung.

Im vorhergehenden sind die beiden wichtigsten Typen des Schlittenmikrotoms angeführt worden, doch sind nur relativ einfache Instrumente beschrieben. Es sind aber noch eine ganze Reihe von Einrichtungen vorhanden, die je nach Bedarf an dem Mikrotomen angebracht werden können. Sie sollen einerseits eine erhöhte Exaktheit, andererseits eine grössere Bequemlichkeit beim Arbeiten bieten. Einige davon sind schon erwähnt worden, nämlich die Einschnappvorrichtung, die es ermöglicht, nach dem Gehör zu beurtheilen, wann die Mikrometerschraube um einen bestimmten Theil gedreht ist, ferner die Anschlagvorrichtung, welche die Schraube mit einem Handgriff jedesmal nur in bestimmtem Masse drehen lässt.

Automatische Hebung des Objekts. Mechanische Messerführung. Eine Vorrichtung, die noch grössere Bequemlichkeit bietet und sehr rasches Arbeiten erlaubt, ist die automatische Hebung des Objekts. Wenn der Messerschlitten beim Rückgang das Objekt wieder passirt hat, wird durch ihn selbst oder bei den Instrumenten mit mechanischer Messerführung durch eine an der Saite oder Kette angebrachte Vorrichtung die Mikrometerschraube gedreht. Die Grösse der Drehung kann ebenfalls variirt werden, so dass auf verschiedene Schnittdicken eingestellt werden kann.

Die eben erwähnte mechanische Messerführung ist von besonderem Werth bei den Instrumenten, bei denen zwischen Schlitten und Gleitbahn eine Oelschicht vorhanden ist. Bei der Bewegung des Messerschlittens mit der Hand ist ungleichmässiges Andrücken desselben an die Bahn kaum zu vermeiden. So geringfügig die dadurch hervorgerufene Aenderung der Schnittdicke auch ist, so kann sie doch bei sehr dünnen Schnitten oder komplicirten Färbemethoden recht unangenehm werden. Meist wird zur mechanischen

Führung des Schlittens eine an ihm befestigte Darmsaite oder Kette ohne Ende benutzt, die über eine Kurbel läuft. Eine derartige Anordnung ist in Fig. 104 zu sehen. MIEHE bewirkt die Schlittenführung durch einen Hebel. SCHANZE durch eine sogenannte Schraube ohne Ende.

Objektklammer. Auch an den einzelnen Theilen des Mikrotoms sind vielfache Verbesserungen angebracht. So wird als Objektklammer wohl nicht häufig mehr der einfache in Fig. 103 abgebildete Halter benutzt. Gewöhnlich besteht der eigentliche Halter aus zwei gerieften Metallplatten, zwischen die das Objekt fest eingeschraubt wird. Diese Vorrichtung wird in einem Rähmchen befestigt, das durch Schrauben in zwei auf einander senkrecht stehenden Richtungen gegen die Horizontale geneigt werden kann. Es kann somit dem Objekt jede Stellung zum Messer gegeben werden, ohne dass es aus dem Halter herausgenommen zu werden braucht. In Fig. 104 ist ein solcher Objekthalter ebenfalls abgebildet. Vielfach ist auch eine Verstellung des Objekts in senkrechter Richtung möglich, wie z. B. bei dem BECKER'schen und REICHERT'schen Mikrotom bereits erwähnt wurde.

Messerhalter. Die Befestigung der Messer am Schlitten wird ebenfalls meist durch besondere Halter bewirkt. Die einfachsten Messerhalter bestehen aus einem Metallklötzchen mit einem Einschnitt zur Aufnahme des Messers und zwei an der entgegengesetzten Seite befindlichen parallelen Fortsätzen, mittels deren es durch eine Flügelschraube am Schlitten festgeschraubt wird. Die untere Fläche des Einschnitts ist zur Horizontalen geneigt, da die Messer bei einer gewissen Neigung der Schneide die beste Schnittwirkung haben. Das Messer wird durch Schrauben festgehalten, die es entweder von oben her fest auf die Unterlage pressen, oder aber von hinten auf den Rücken des Messers drücken. Für den letzteren Fall muss der Einschnitt nach vorn zu schmäler werden, und es sind nur solche Messer verwendbar, deren Rücken breiter ist als der vordere Theil des Einschnittes. Diese Messerhalter genügen aber nicht den Ansprüchen der feineren Technik. Denn für jedes Messer ist der Winkel, in dem es gegen die Horizontale geneigt sein muss, um seine beste Wirkung zu entfalten, ein anderer. Man half sich zunächst dadurch, dass man Metallkeilchen verschiedener Dicke unter den Messerhalter schob. Doch ist diese Methode nicht gerade bequem, da jedesmal die Haltschraube des Halters gelüftet werden muss, und ausserdem ist es schwierig, das Messer jedesmal wieder genau in demselben Winkel einzustellen. Man baut deshalb jetzt Messerhalter, die in sich selbst die Neigung des Messers, und zwar ganz allmählich zu verändern zulassen. Diese bestehen aus zwei Theilen. Bei dem nach HESS und BÄR ist der für Aufnahme des Messers bestimmte Theil nach unten konvex und ruht auf einer nach oben konkaven Platte. Beide Krümmungen entsprechen Abschnitten eines Cylindermantels. Werden die beiden Stücke gegeneinander verschoben, so wird demgemäss auch die Neigung des Messers geändert, die bis zu 16° betragen kann.

Bei dem einen Halter von JUNG besteht der eine Theil aus einem Cylinder mit keilförmigem Ausschnitte zur Aufnahme des Messers. Der andere Theil, der mittels Gabel und Schraube am Schlitten befestigt wird, ist entsprechend dem Cylinder ausgehöhlt und nach vorne offen. Der Cylinder ist in ihm drehbar und in der gewünschten Stellung durch Schräubchen zu fixiren. Je nach der Grösse der Drehung ist auch in diesem Halter eine Neigung des Messers bis zu 16° zur Horizontalen möglich.

Einen wenn auch kleinen Uebelstand haben diese Halter insofern noch aufzuweisen, dass mit jeder Aenderung der Neigung des Messers auch eine Aenderung der Höhe der Schneide gegeben wird. Nach jeder Aenderung während des Schneidens muss auch das Objekt entsprechend höher oder tiefer gestellt werden. Dies vermeidet das neue Modell von JUNG, indem

der zur Aufnahme des Messers bestimmte Theil kein voller Cylinder, sondern nur ein Cylinderabschnitt ist, ebenso das andere Stück nur einem Theil eines Hohlcylinders entspricht. Die Abmessungen sind derartig, dass bei Verwendung eines Messers von 34 Mm. Breite die Axe, um welche sich der Messerhalter dreht, annähernd in die Messerschneide zu liegen kommt. Bei Aenderung der Messerneigung ist nachträglich nur eine sehr geringfügige Hebung oder Senkung des Objekts nothwendig, wozu einige Umdrehungen der Mikrometerschraube schon genügen. Mit kleinen Modifikationen beim Einspannen können Messer von 29—34 Mm. gebraucht werden, während bei Messern von anderer Breite die Höhe der Schneide bei Drehung des Messers sich ebenfalls ändert.

Messerstützen. Bei langen Messern, wie sie bei schräger Messerstellung, z. B. beim Schneiden grösserer Celloidinpräparate benutzt werden, zeigt sich häufig der Uebelstand, dass sie ziemlich stark federn. Die Sicherheit und Genauigkeit des Scheidens wird hiedurch sehr wesentlich beeinträchtigt. Um dies möglichst zu verhindern, sind von Reichert und Jung speciell für ihre Tauchmikrotome Messerhalter angefertigt, die das Messer nicht an einer Stelle, sondern in der Nähe der beiden Enden festhalten. Von Becker und Jung werden besondere Messerstützen angefertigt. Bei Becker besteht dieselbe, wie in Fig. 104 zu sehen, aus einem dicken runden Metallstab mit einem geknickten Ansatzstück. An dem letzteren wird er auf dem Objektschlitten hinter dem Messer so befestigt, dass sein Ende gerade über dem Messer liegt. Hier ist der Metallstab von einem kleinen Stiftchen durchbohrt, das mit einer Schraube fixirt werden kann. Das Stiftchen wird nun auf das Messer so aufgesetzt, dass man eben den Widerstand des Messers fühlt, ohne es irgendwie nach unten zu drücken. In dieser Stellung wird das Stiftchen dann festgeschraubt. Die Messerstütze von Jung ist dreikantig, liegt nicht über, sondern in gleicher Höhe mit dem Messer und hat nur am Ende einen erhöhten Aufsatz.

Tauchmikrotome. Vielfach ist es nothwendig, feucht zu schneiden, d. h. während des Schneidens das Messer stets mit Alkohol, beziehungsweise Wasser benetzt zu halten. Die einfachste Art, dies zu erreichen, ist ja die, mit einem Pinsel vor jedem Schnitte etwas Flüssigkeit auf Objekt und Messer zu bringen. Dies ist aber ziemlich zeitraubend, und so hat man denn über dem Messer kleine Behälter angebracht, aus denen die Flüssigkeit auf dasselbe tropft. Bei sehr grossen Präparaten, oder wenn man sehr dünne Schnitte anfertigen will, tritt aber trotz sorgfältigsten Benetzens des Messers ein Zerreissen der Schnitte ein.

So hat sich denn bald das Bedürfniss herausgestellt, wie bei den Gudden'schen Mikrotomen die ganze Procedur unter Flüssigkeit vorzunehmen und so zur Konstruktion der Tauchmikrotome geführt. Schanze und Miehe haben ihre im übrigen unveränderten Instrumente zum Umklappen eingerichtet, derart, dass das Messer aus der wagrechten in senkrechte Lage kommt. In passender Höhe ist eine Blechwanne angebracht, in die Messer und Objekt eintauchen. Für diese Art von Tauchmikrotomen ist die Schwalbenschwanzführung des Messerschlittens Erforderniss. Für Schneiden unter Flüssigkeit mit einem wie gewöhnlich wagrecht stehenden Messer sind die Tauchmikrotome von Ost-Becker, Reichert und Jung konstruirt. Bei dem Ost-Becker'schen Mikrotom ist in der Parallelogrammführung an Stelle der Objektklammer ein Metallcylinder angebracht, innerhalb dessen sich ein Objekthalter befindet. Dieser Cylinder ist mit einer flachen, parallel der Messerbahn angebrachten Wanne durch einen entsprechend weiten Gummischlauch flüssigkeitsdicht verbunden. Der Messerhalter, sowie der Messergriff sind so abgeändert, dass die Messerschneide dicht über den Boden der Wanne hinweggeführt wird. Die Mikrometerschraube wirkt wie bei dem gewöhnlichen Becker'schen Mikrotom senkrecht von unten auf den Cylinder, und je nach ihrer Stellung wird der Gummischlauch mehr oder weniger sich in Falten legen.

Eine derartige Verbindung durch Gummi oder auch aus Leder wird indessen mit der Zeit undicht, so dass REICHERT Wanne und Cylinder direkt miteinander verbindet. Die Hebung des Objektes geschieht auch bei diesem Mikrotom mittels der stark ansteigenden schiefen Ebene und der ununterbrochen wirkenden Mikrotomschraube. Der Messerhalter erlaubt die Verwendung der üblichen Messer und fasst diese, wie schon gesagt, an zwei Stellen zur möglichsten Vermeidung des Federns. Aehnlich ist auch das neuerdings von JUNG gebaute Tauchmikrotom gebaut. Nur wird hier die Hebung des Objekts durch einen Hebel bewirkt, der mit einer Parallelogrammführung verbunden ist.

Automatische Mikrotome mit feststehendem Messer. Nicht alle Mikrotome sind indessen nach dem Typus der Schlittenmikrotome gebaut, sondern auch andere Konstruktionen sind mit Erfolg angewandt worden. So wird bei einer Anzahl von Mikrotomen nicht das Messer bewegt, sondern das Objekt am feststehenden Messer vorbeigeführt. Zugleich ist meist die Einrichtung getroffen, nach jedem Schnitt das Objekt um eine bestimmte Strecke vorrücken zu lassen, so dass ein schnelles Arbeiten mit diesen Instrumenten ermöglicht ist. Das älteste dieser Mikrotome ist das sogenannte »Cambridge rocking microtome«. Bei diesem ist das Objekt an dem einen Ende eines zweiarmigen Hebels befestigt und wird durch Bewegung dieses an einem vor dem Hebel befindlichen Messer vorübergeführt. Ein ganz ähnliches Mikrotom baut auch JUNG. Beide Instrumente haben den Nachtheil, dass sie keine planparallelen Schnitte liefern. Denn das Objekt beschreibt ja bei der Bewegung einen Bogen und demgemäss bildet auch der Schnitt einen Theil eines Cylindermantels. Für eine grosse Anzahl von Untersuchungen ist dieser Umstand belangreich genug, um von einer Verwendung dieser Mikrotome Abstand nehmen zu müssen, so besonders, wenn die Schnitte etwa zu plastischen Rekonstruktionen verwendet werden sollen.

Da aber andererseits bei passender Wahl des Objekts und des Einbettungsmediums sich ausserordentlich schnell und einfach damit arbeiten lässt, so sind andere automatische Mikrotome gebaut worden, die planparallele Schnitte herstellen. REICHERT hat die Befestigung des Objekts an einem Hebel beibehalten; das Messer steht aber nicht vor dem Hebel, sondern seitlich parallel zu ihm. Entsprechend ist auch das Objekt befestigt. Die Bewegung des Hebels erfolgt durch ein Triebrad, zugleich wird durch dieses, wenn das Objekt am Messer wieder vorbeipassirt ist, das letztere automatisch um 1—10 μ vorgeschoben, so dass beim Niedergehen des Objekts ein entsprechend dicker Schnitt entsteht. Bei dem ähnlichen BECKER'schen Mikrotom ist der Hebel durch eine Parallelogrammführung ersetzt.

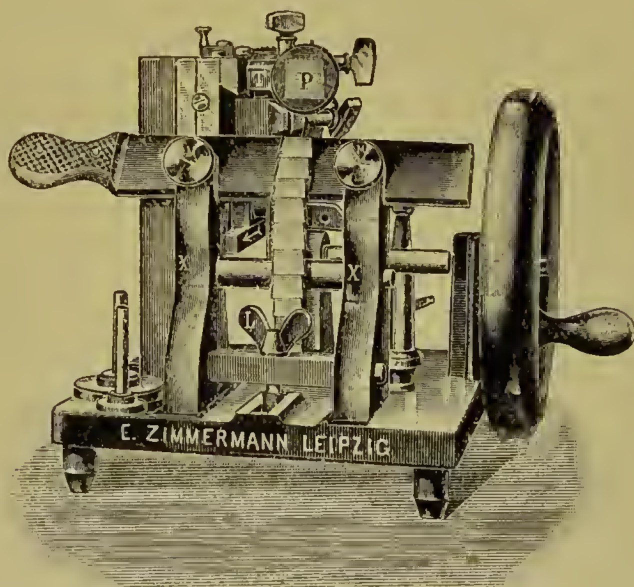
Bei dem von ZIMMERMANN nach den Angaben von MINOT konstruirten Mikrotom, wie es Fig. 105 zeigt, ist von der Benützung eines Hebels ganz abgesehen. In einer Schwalbenschwanzführung wird ein Schlitten durch einen Excenter, der mittels eines Triebrades bewegt wird, senkrecht auf und ab geführt. In diesem Schlitten ist oberhalb des Excenters der eigentliche Objektschlitten eingepasst und wird durch eine Mikrometerschraube horizontal bewegt. Vor dem Präparat befindet sich der Messerständer, der aus zwei soliden Pfeilern besteht. Der Abstand vom Objektschlitten kann verändert und so der Länge des zu schneidenden Stückes angepasst werden. In der gewählten Stellung wird der Ständer durch eine Schraube fixirt. Am oberen Ende der Pfeiler befindet sich ein Einschnitt, in dem das Messer durch Schrauben befestigt wird. Diese sind so angeordnet, dass die Neigung des Messers etwas variirt werden kann. Am hinteren Ende der Mikrometerschraube befindet sich ein Zahnrad, das die Drehung der Schraube entweder aus freier Hand oder automatisch erlaubt. In letzterem Fall hebt der Schlitten am Ende der Aufwärtsbewegung einen Hebel um eine verstellbare Grösse, und mittels eines Sperrhäkchens wird dadurch das Zahnrad entsprechend weit gedreht.

Bei dem automatischen Mikrotom von de Groot ist das Objekt auf einem Tischchen befestigt, das durch Kurbel und Triebstange horizontal hin- und herbewegt wird gegen ein ebenfalls horizontal über dem Objekt befindliches Messer. Die Hebung des Objekts wird durch eine senkrecht unter dem Tischchen angebrachte Mikrometerschraube bewirkt, die an ihrem unteren Ende ein Zahnrad trägt. Beim Zurückgehen des Tischchens greifen die Zähne in diejenigen einer gezähnten Stange, die verschieden weit vorgeschoben werden kann. Auf diese Weise wird die Mikrometerschraube ebenfalls automatisch um einen bestimmbaren Betrag gedreht.

Die beschriebenen automatischen Mikrotome sind im allgemeinen nur für Paraffinobjekte von nicht zu grossen Dimensionen brauchbar. Bei diesen aber ermöglichen sie ein sehr schnelles und exaktes Arbeiten. Um auch für Celloidinobjekte ähnliches zu erreichen, hat Zimmermann ein anderes Modell angefertigt, das sich von dem abgebildeten wesentlich nur dadurch unterscheidet, dass das Messer nicht nur quer, sondern auch schräg zum Objekt gestellt werden kann.

Kleine Mikrotome. Die bisher beschriebenen Mikrotome sind im wesentlichen für feinere Untersuchungen bestimmt. Wenn sich mit vielen auch sehr rasch arbeiten lässt, so nimmt doch die Einstellung des Objektes

Fig. 105.



u. s. w. immer einige Zeit weg. Sie sind ausserdem auch relativ subtil gebaut, so dass durch gröbere Ungeschicklichkeiten bei der Handhabung leicht Beschädigungen entstehen.

Schliesslich ist auch der Preis der besseren Instrumente recht hoch. Alle diese Umstände haben dazu geführt, kleinere Instrumente zu bauen, die ebenfalls rasches Arbeiten erlauben, wenn sie auch für feinere Untersuchungen nicht recht brauchbar sind. Eins der verbreitetsten derartigen Mikrotome ist das in Fig. 106 abgebildete sog. »Studentenmikrotom« von Jung. Der Objekthalter besteht wie bei dem Ranvier'schen aus zwei in einander steckenden Cylindern *b* und *c*, von denen der innere durch eine Mikrometerschraube gehoben wird.

Er enthält entweder eine Klammer, in die das Objekt eingespannt wird (in der Figur rechts, *c'*), oder er trägt ein solides Tischchen, auf das Paraffinobjekte z. B. einfach aufgeschmolzen werden.

Das kurze, starke, grifflose Messer ist an einem zweiarmigen Hebel befestigt und wird bei Bewegung dieses horizontal über das Objekt hinübergeführt. Die Hebung des Objekts geschiehtmit der Hand durch Drehen der Mikrometerschraube an einem unten angebrachten Rädchen *M*, oder aber auto-

matisch. In letzterem Fall ist an der Stange *a*, die sich bei der Bewegung des Messerhebels mitdreht, ein Sperrhäkchen angebracht, das beim Zurückgehen des Messers in ein Zahnrad eingreift, das mit der Mikrometerschraube verbunden ist. Die Zahl der Zähne, um die das Zahnrad gedreht wird, ist ebenfalls verstellbar.

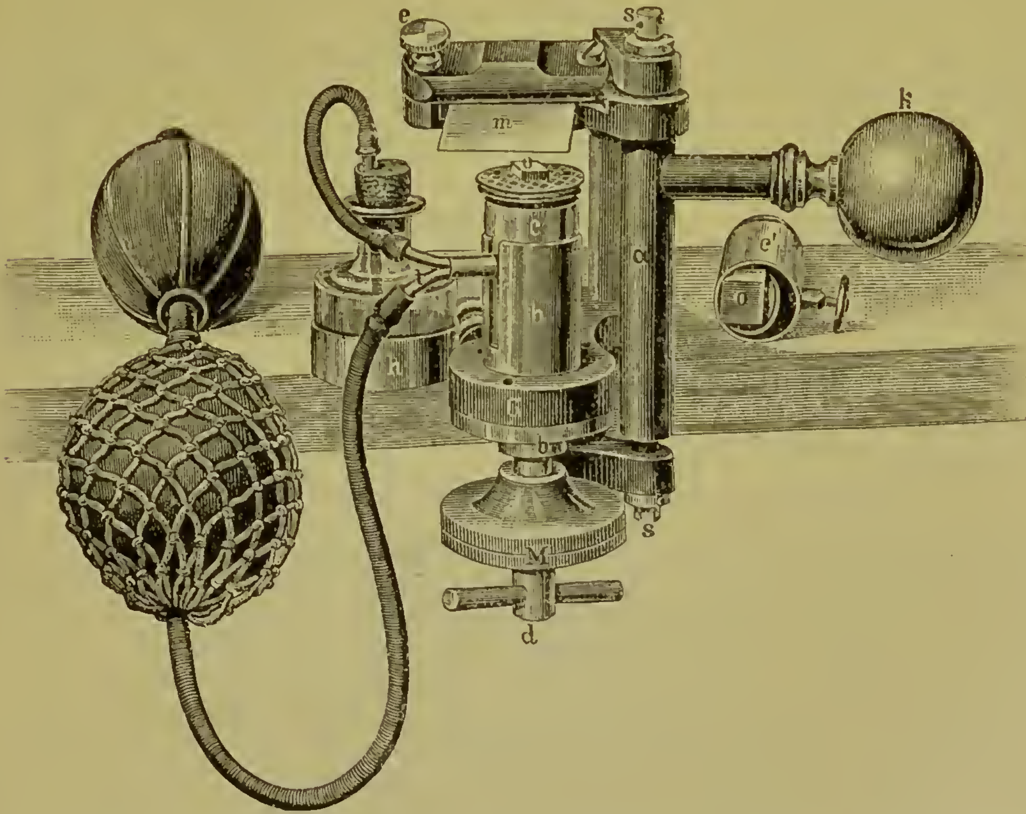
Das von Reichert angefertigte kleine Mikrotom verwendet einen einarmigen Hebel und gestattet ausserdem die Benutzung verschiedener Messer. Auch ist der Drehpunkt des Hebels verlegbar, so dass die Bewegung des Messers gegen das Objekt drückend oder ziehend gestaltet werden kann.

Nur ziehend ist die Messerbewegung bei dem kleinen Becker'schen Mikrotom, indem sie durch Parallelogrammverschiebung erfolgte. Letztere kommt auch bei Hebung des Objekts in Anwendung.

Gefriervorrichtung siehe Gefriermethoden.

Mikrotommesser. Zum Schluss mögen noch einige Bemerkungen über den wichtigsten Hilfsapparat des Mikrotoms, nämlich das Messer,

Fig. 106.



Platz finden. Hervorgegangen sind die verschiedenen Typen der Mikrotommesser aus dem Rasiermesser. Bei einigen Mikrotomen, so bei dem de Groot'schen, findet dieses auch heute noch Anwendung. Für die meisten Zwecke aber wird man besonders gefertigter Messer bedürfen, schon weil die Rasiermesser für harte Objekte nicht kräftig genug sind.

Die Mikrotommesser sind wie alle Messer in ihrer Grundform nichts weiter wie sehr breite Keile. Ebenso wirken sie nach neueren Untersuchungen nur als solche, nicht als Säge, wie früher vielfach angenommen wurde. Die Form des einfachen Keils ist indessen verlassen und die Messer komplicirter gestaltet worden. Zunächst hatte dies seinen Grund darin, dass, wenn das Messer stumpf geworden war, d. h. die beiden Flächen des Keils nicht mehr in einem Winkel zusammenstiessen, man es seiner ganzen Breite nach abschleifen musste, um wieder genaue Keilform zu erhalten. Deshalb werden die Messer, wie auch gerade die Rasiermesser, auf einer oder auf beiden

Seiten hohl geschliffen, so dass nur an der Schneide ein kleiner Keil übrig bleibt, der ein sehr viel einfacheres Nachschärfen erlaubt. Oder aber, man schleift die beiden Flächen des Keils an der Schneide noch etwas ab, so dass die neu entstandenen kleinen Flächen einen etwas stumpferen Keil bilden, als der ursprüngliche vorstellte. Es ist dies die Art, wie auch die gewöhnlichen Messer geschliffen werden. Die Flächen, die den kleineren Keil einschliessen, werden als »Schneidefacetten« bezeichnet, da ja das eigentliche Schneiden nur mit ihnen geschieht. Die Mikrotommesser sind nun in der einen oder anderen Weise mit Schneidefacetten versehen. Wir besitzen solche, bei denen die Klinge beiderseits hohl, solche, bei denen sie einerseits hohl, andererseits plan und solche, bei denen sie beiderseits plan geschliffen ist. Es richtet sich dies ganz nach dem zu schneidenden Objekt. Gleichmässig soll aber für alle Messer die Lage der Schneidefacetten sein. Um möglichst dünne und gleichmässige Schnitte zu erhalten, muss die dem Objekt zugekehrte Schneidefacette genau parallel der Ebene der Messerführung liegen. Ist sie nämlich so angebracht, dass sie nach der Schneide zu ansteigt, so wird ihr hinterer Theil auf das Objekt drücken, andererseits wird sie das Bestreben haben, die Schneide aus dem Objekt herauszuheben. Man erhält dann zuerst einige unvollständige Schnitte, bis zuletzt der vordere überstehende Theil des Objekts so dick wird, dass das Messer nicht mehr ausweichen kann. Dann aber ist dies Stückchen viel dicker wie die übrigen Schnitte. Steigt umgekehrt die untere Schneidefacette nach dem Rücken zu an, so schadet das weniger, doch versucht sie bei grösseren Objekten wenigstens tiefer in das Objekt einzudringen, so dass die Schnitte auch nicht genau gleichmässig ausfallen. Da die Messer nun selten so gelingen, dass die untere Facette von vornherein genau parallel zur Schnittebene steht, sind eben die Messerhalter konstruirt worden, die eine Veränderung der Neigung des Messers erlauben. Freilich ist man auch hier auf das Ausprobiren angewiesen, in welcher Stellung das Messer gerade die beste Leistung aufweist.

Die Formen, in denen die Messer angefertigt werden, besonders auch die der Griffe, sind sehr mannigfaltig, doch sind principielle Unterschiede nicht vorhanden. Vor allem werden sie möglichst dick angefertigt, um ein Durchbiegen oder Federn möglichst zu vermeiden. Doch ist der Dicke des Messers eine gewisse Grenze gesetzt dadurch, dass bei gleicher Breite desselben die Flächen einen umso grösseren Winkel einschliessen, je dicker das Messer ist, also auch eine um so schlechtere Schnittwirkung haben. Und über eine gewisse Breite hinauszugehen, ist unthunlich, da alsdann das Messer zu unhandlich werden würde. Bei grösseren Messern werden deshalb die oben erwähnten Messerstützen angebracht. Die Messer sind meist gerade, die Länge der Schneide schwankt gewöhnlich zwischen 6 und 36 Cm., doch sind für besondere Zwecke auch noch längere angefertigt worden. An den Messerschlitten werden sie entweder mittels eines Messerhalters oder aber direkt befestigt. In letzterem Fall ist ihr Griff relativ breit und besitzt einen Schlitz zur Aufnahme einer Flügelschraube wie z. B. bei den Messern nach Thoma oder Henking. Bei den ersteren ist der Griff geschweift, bei anderen steht er entweder in der Längsaxe des Messers oder in einem Winkel dazu. Die Messer von Jung haben nur einen kleinen rundlichen Griff, der lediglich den Zweck hat, denselben in einen bequem in der Hand liegenden Holzgriff einspannen zu können, hauptsächlich, um sie bequem abziehen zu können.

Die grösseren Messer können auch ihrer Länge nach durchbohrt sein, um je nachdem warmes oder kaltes Wasser hindurchströmen lassen und sie so auf verschiedene Temperatur bringen zu können. Es hat dies Werth, wenn man mit Paraffin von sehr verschiedenem Schmelzpunkt arbeitet,

oder wenn, wie im Hochsommer, die Temperatur des Arbeitsraumes erheblich über das Mittel ansteigt.

Doppelseitig hohlgeschliffene Messer werden speciell für Mikrotome im allgemeinen nur noch selten angefertigt, sondern zumeist werden beiderseits plane oder plankonkave angewandt. Für gut schneidbare Celloidinpräparate wird man zweckmässig ein Messer wählen, dessen obere Fläche ziemlich tief ausgeschliffen ist. Für harte Celloidinstücke sowie die Mehrzahl der Paraffinobjekte wird der Ausschliff weniger tief gewählt, und für sehr harte Paraffinblöcke sowie für Gefrierschnitte bedient man sich der beiderseits planen Messer. Vielfach werden diese drei Arten des Schliffes mit a, b und c bezeichnet, und die neuen Messer tragen meist eine dementsprechende Signatur.

Bei sorgsamer Behandlung, und wenn nicht gar zu harte Objekte geschnitten werden müssen, bleiben die Messer lange Zeit gebrauchsfähig. Sollten sie einmal stumpf geworden sein, so ist anzurathen, das Schleifen derselben einem damit vertrauten Instrumentenmacher zu überlassen, die allerdings nicht überall zu finden sind. Dagegen ist es unbedingt nothwendig, die Messer häufig abzuziehen, was auch vom Ungeübten leicht zu bewerkstelligen ist. Am besten wählt man einen unnachgiebigen Streichriemen; für kleinere und mittlere Messer sind die sogenannten chinesischen Streichriemen von Zimmer ganz praktisch, für grosse Messer sind besondere Streichriemen zu haben. Damit auch wirklich die Schneidefacetten den Riemen berühren, bedient man sich der sogenannten Abziehvorrichtung. Am einfachsten ist eine aufgeschnittene Metallröhre, die auf den Rücken des Messers geschoben und mit einer kleinen Schraube angezogen wird. Das Messer selbst muss vor dem Abziehen gereinigt werden, wobei man sich vor dem Berühren der Schneide zu hüten hat. Dann führt man es etwa 6—12mal auf jeder Seite mit dem Rücken voran ohne jeden Druck über das Leder, indem Schneide und Abziehvorrichtung voll aufliegen. Bei dem erwähnten Zimmer'schen Streichriemen, der vier verschieden stark angreifende Flächen besitzt, genügt meist die Benützung von Nr. 4. Das Messer vorher über die stärker angreifende Nr. 3 oder gar Nr. 2 zu führen, wird selten nöthig sein. Nach dem Abziehen muss das Messer wiederum gereinigt werden. Wenn das Abziehen jedesmal nach dem Gebrauch erfolgt, so kann ein gutes Messer mehrere Jahre gebrauchsfähig bleiben, ohne dass ein Schleifen nothwendig wird.

Die beschriebenen Mikrotome sind wohl diejenigen, die zur Zeit am meisten in Gebrauch sind. Veraltete Konstruktionen oder Modelle, die nur für ganz beschränkte Zwecke Verwendung gefunden haben, sind nicht berücksichtigt oder nur nebenbei erwähnt worden. Ebenso sind auch nicht alle eventuell vorhandenen Modifikationen besonders der Nebenapparate aufgezählt worden, da dies einen grossen Raum beansprucht hätte, ohne dass wesentlich anderes hätte angeführt werden können.

Litteratur: Ausführliche Beschreibungen und Abbildungen der Mikrotome und Nebenapparate finden sich in den meisten Katalogen der betr. Firmen. Ferner sind fast alle in der Zeitschr. f. Instrumentenkunde und in der Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. einer Besprechung unterzogen. Allgemeinere Bemerkungen finden sich in den meisten Lehrbüchern der Histologie und der mikroskopischen Technik; ziemlich ausführlich sind sie, besonders auch die Messer in dem Buch „Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung« von Behrens, Kossel und Schiefferdecker, Braunschweig 1889, behandelt.

Thomé, Strassburg.

Milchdrüse. Für die Fixation des Milchdrüsengewebes spielen naturgemäss die osmiumhaltigen Fixirmittel die erste Rolle, vor allem kommen hier in Betracht 0,5—1%ige wässerige Osmiumsäure, Flemming-sche oder Hermann'sche Flüssigkeit (Michaelis) und das Altmann'sche Osmium-Bichromatgemisch (Steinhaus). Unger fixirt nach der Marchi'schen

Methode: kleine Stückchen kommen für 2—5 Tage in MÜLLER'sche Flüssigkeit, worin sie aber nicht bewegt werden dürfen, dann 3—5 Tage in zwei Theile Müller und 1 Theil 1%ige Osmiumsäure, Abspülen einige Minuten in Wasser und steigender Alkohol. Sämmtliche Proceduren sollen im Dunkeln vorgenommen werden. Einschluss der Schnitte in Benzin-Kolophonium nach NISSEN. Von anderen nicht osmiumhaltigen Flüssigkeiten sind empfoblen worden: Alkohol (R. HEIDENHAIN), Sublimat (MICHAELIS), 10%ige Salpetersäure 1—2 Tage, dann 5%iges Bichromat (BENDA, UNGER).

Färbung der Schnitte, wo eine solche überhaupt nöthig ist, in Safranin, Safranin-Lichtgrün, Eisenhämatoxylin etc.

Litteratur: MICHAELIS (Arch. mikr. Anat., Bd. 51, 1898), STEINHAUS (Arch. Anat., Suppl. 1893), UNGER (Anat. Hefte, 32, 1898), NISSEN (Arch. mikr. Anat., Bd. 26, 1896), R. HEIDENHAIN (HERMANN'S Handbuch der Physiologie, Bd. 5, 1883), PARTSCH (Inaug.-Diss., Breslau 1880), BENDA (Dermat. Zeit., 1893).

Milchsäure, Aethylidenmilchsäure, α-Oxypropionsäure, Acidum lacticum, $CH_3 — CH(OH) — COOH$, stellt eine klare, farblose oder schwach gelbliche Flüssigkeit von syrupöser Beschaffenheit und saurer Reaktion dar. Spec. Gew. 1,215. In vollkommen reinem Zustande hat man sie durch Destillation der noch wasserhaltigen Säure unter stark vermindertem Druck erhalten; sie stellt dann einen festen, bei 18° schmelzenden Körper dar.

So wie sie gewöhnlich als Flüssigkeit vorkommt, ist sie in jedem Verhältniss mit Wasser, Alkohol, Aether mischbar, sie löst sich nur wenig in Chloroform und löst selbst die Metalloxyde und die anderen basischen Verbindungen.

In der praktischen Medicin hat die Milchsäure vor allem als Aetzmittel (keratolytisches Mittel) Verwendung gefunden; ferner ist sie als Lösungsmittel für phosphorsaure Konkremente empfohlen worden. Auf demselben Princip, das dieser Empfehlung zugrunde liegt, beruht die Benutzung der Milchsäure als Entkalkungsflüssigkeit in der mikroskopischen Technik. Nach HAUG ist sie 10%ig oder noch koncentrirter sowohl für embryonale und kleinere Knochen, als auch für ältere kalkhaltige Gewebe anwendbar.

Ferner wird Milchsäure verwandt bei der Golgimethode. HILL setzt der Kaliumbichromatlösung, die er dem Thiere nach dem Tode injicirt, 1% Milchsäure zu, um so eine Kontraktion der Gefässe hintanzuhalten. Ueber die Verwendung bei der Silberimprägnation siehe bei Silber. Nach LO BIANCO dient die Milchsäure (1‰) zur Fixation von Larven und kleinen gelatinösen Organismen.

In der bakteriologischen Technik wird nach A. FISCHER eine 10%ige Milchsäurelösung zur Fixirung der Bakterien benutzt, die eine Färbung mit alkoholischer Anilinfarbe nicht verhindern soll, in der botanischen eine koncentrirte Lösung bei der Untersuchung getrockneter Algen und Pilze. Nach LAGERHEIM werden die Algen und Pilze zunächst in Wasser aufgeweicht, dann in die koncentrirte Milchsäurelösung übertragen und auf dem Objektträger erhitzt, bis sich kleine Gasblasen zeigen. Es kann dann direkt in der Milchsäurelösung untersucht werden. Auf diese Weise erreichen die getrockneten Pflanzen ihre natürliche Form wieder.

Litteratur: A. FISCHER (Ber. Kgl. Sächs. Ges. Wiss., 1891), HAUG (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), HILL (Brain, 1896), LAGERHEIM (Hedwigia, 1888), LO BIANCO (Mitth. Zool. Stat Neapel, Bd. 9, 1890). *Mosse*, Berlin.

Milben siehe Parasiten, thierische.

Millon's Reagens, eine oxydhaltige Lösung von Quecksilberoxydulnitrat, wird erhalten durch Lösen von 1 Theil metallischen Quecksilbers in 1 Theil rauchender Salpetersäure unter Abkühlung und Verdünnen der erhaltenen Lösung mit 2 Theilen Wasser. Die Lösung soll ganz farblos sein, Gelbfärbung zeigt einen grösseren Gehalt an basischem Salz an.

Millon's Reagens findet als Reagens auf Eiweisskörper eine ausgedehnte Anwendung auch in der Mikrotechnik, daneben ist es auch von manchen Seiten als Fixationsmittel warm empfohlen worden.

Milz. Für das Studium der Milz kommen im wesentlichen diejenigen Methoden in Frage, die schon bei den Lymphdrüsen angegeben worden sind. Da es sehr häufig auf gute Erhaltung des Hämoglobins ankommt, so spielen in der Milztechnik die Bichromate eine grosse Rolle. So fixiren Panski und Thoma die Milz in toto durch Aufhängen in einem grossen Gefäss mit Müller'scher Flüssigkeit, die natürlich täglich gewechselt werden muss. Nach 10 Tagen wird das Organ in kleinere Stücke zerlegt und dieselben auf weitere 8 Tage in der Flüssigkeit belassen, dann Entwässerung und Celloidineinbettung.

Kultschitzky fixirt Milz der Katze ebenfalls in Müller, eventuell unterbindet er vor dem Herausnehmen die Gefässe, zuerst die Venen, dann die Arterien.

Masslow fixirt am besten die Milz in Kultschitzky'scher Flüssigkeit (vergl. pag. 146) 5—10 Tage im Dunkeln. Von anderen Fixationsmitteln ist empfohlen worden von Arnold und Müller Flemming'sche Flüssigkeit ein bis zwei Tage, von ersterem auch 0,3%iges Platinchlorid oder 0,3%ige Chromsäure mit 0,5% Essigsäure oder 0,1%ige Chromsäure mit 0,45% Platinchlorid und 9% Essigsäure, von Kultschitzky 95%iger Alkohol mit 1% Essigsäure, von Pugliese (Igel) und Reich (Frosch) koncentrirtes Sublimat, von letzterem auch 4%iges Formol.

Ueber die Darstellung des retikulirten Gewebes in der Milz vergleiche man den Artikel Adenoides Gewebe. Die glatten Muskeln der Milzbalken lassen sich durch die Giesonfärbung ausserordentlich schön hervorheben. Kultschitzky färbt zu demselben Zwecke Müller'sche Schnitte mehrere Tage in einer ätherischen Lösung von Lakmoid.

Zum Studium der elastischen Fasern der Milz eignen sich vor allem die Unna-Tänzer'sche und die Weigert'sche Färbung. (Näheres s. Elastin.) Zur Darstellung der ihrer Natur nach viel umstrittenen Kreisfasern der kapillaren Venen empfehlen v. Ebner, Schumacher, Böhm und Hoyer jun. ebenfalls die Unna-Tänzer'sche Methode. Nach letzterem Autor soll man nicht in Paraffin, sondern in Celloidin einbetten und Material verwenden, das recht lange in Alkohol gelegen hat. Die Färbung gelingt auch mit der Weigert'schen Methode, der Giesonfärbung und mit neutralem Orceïn. Thomé findet die Kreisfasern an Paraffinschnitten ebensogut darstellbar wie an Celloidinschnitten, sie lassen sich mit den verschiedensten Methoden für elastisches und kollagenes Gewebe färben, am schönsten aber mit dem Mallory'schen Hämatoxylin. Fixation am besten in Zenker'scher Flüssigkeit. Am frischen oder gefrorenen Schnitt treten die Fasern sehr gut durch Behandlung mit dünner Kalilauge (1 : 350) hervor (Henle, Thomé).

Sehr demonstrative Präparate erhält man nach Thomé, wenn man die Gefrierschnitte auf dem Objektträger antrocknet, dann einige Minuten mit 1—2%iger Kalilauge behandelt und in Mallory'schem Hämatoxylin färbt. An solchen Präparaten kann man deutlich den Zusammenhang der Kreisfasern mit den Fasern des Retikulums erkennen.

Zur Färbung der Milznerven ist von Fusari die rasche Golgimethode (3—10 Tage in Osmiumbichromat) empfohlen worden.

Betreffs der Injektion der Blutbahnen der Milz vergleiche man den Artikel Injektion.

Litteratur: Panski u. Thoma (Arch. exp. Path. Pharm., Bd. 31, 1893), Kultschitzky (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), Masslow (ebenda, Bd. 51, 1897), Arnold (ebenda, Bd. 31, 1888), Müller (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 100, 1892), Pugliese (Fort. Med., 1897), Reich (Virch. Arch., Bd. 160, 1900), v. Ebner (Anat. Anz., Bd. 15, 1899), v. Schumacher (Arch. mikr. Anat., Bd. 55, 1899), Böhm (Fest. f. Kupffer, 1899), Hoyer jun. (Anat. Anz., Bd. 17, 1900), Thomé (ebenda, Bd. 19, 1901), Henle (Zeit. rat. Med., 3. Reihe, Bd. 8, 1860).

Milzbrandbacillus, Bacillus anthracis. Die Milzbrandbacillen färben sich in Deckglaspräparaten leicht mit den wässerigen Farblösungen der gebräuchlichen basischen Anilinfarbstoffe. Hierbei zeigen die Enden der Stäbchen nicht selten eine knotige Verdickung und an den Endflächen eine flache Einbuchtung. Die Fäden der Milzbrandbacillen erhalten durch die kolbigen Enden eine Aehnlichkeit mit einem Bambusrohre, das an den Stellen, wo zwei Bacillen sich berühren, einen bikonvexen ungefärbten Zwischenraum, beziehungsweise eine spaltförmige ovale Lücke erkennen lässt. Auf diese Kunstprodukte, die besonders bei intensiver Färbung auftreten, wurde früher ein diagnostischer Werth gelegt. Von grosser Wichtigkeit für die Unterscheidung der Milzbrandbacillen von anderen morphologisch sehr ähnlichen Bacillen ist die Eigenschaft derselben geworden, dass sie nämlich im Thierkörper von einer Schleim-, beziehungsweise Gallerthülle umgeben sind, die bei bestimmten Färbemethoden deutlich in Form einer scharf kontourirten Hülle (sogen. Kapsel) sich zu erkennen giebt.

Um diese differentialdiagnostisch wichtige Eigenthümlichkeit der Milzbrandbacillen durch die Färbung nachzuweisen, verfährt man nach Johne so:

1. Das lege artis hergestellte, gut lufttrockene Deckglaspräparat wird in üblicher Weise dreimal durch die Flamme gezogen (fixirt);

2. dann in horizontaler Haltung, die bestrichene Seite nach oben, mit soviel einer 2%igen wässerigen Anilinfarbstofflösung (am besten Gentianaviolett) betropft, bis seine Oberfläche vollständig mit letzterer bedeckt ist; hierauf

3. in gleicher Haltung so lange durch die Flamme gezogen oder etwas über derselben gehalten, bis aus der Farblösung leichter Rauch aufsteigt;

4. Abspülen in Wasser, dann 8—10 Sekunden in 2%ige Essigsäure, sodann nochmaliges sorgfältiges Abspülen in Wasser;

5. Untersuchen in Wasser, nicht in Balsam, da sonst wegen des starken Lichtbrechungsvermögens des letzteren die Hülle nicht zu sehen ist.

Nach dieser Färbemethode erscheinen die Milzbrandbacillen aus einzelnen stärker gefärbten Bakterienzellen zusammengesetzt, die von der schmalen matt gefärbten, scharf begrenzten Hülle umgeben sind. Die einzelnen Bakterienzellen sind an den Endflächen rechtwinkelig abgestutzt und durch ungefärbte mehr oder weniger rechteckige Zwischenräume vollständig von einander getrennt. Die Gallerthülle (Kapsel) ist nur nachweisbar an den aus dem Blute oder Gewebssafte von an Milzbrand verendeten Thieren stammenden Bacillen, nicht an denen aus künstlichen Kulturen.

Will man durch Doppelfärbung der Bakterienzellen und der Hülle diese Verhältnisse noch mehr zur Anschauung bringen, so verfährt man nach Klett folgendermassen:

Der gut lufttrockene, am besten einige Stunden gelegene Deckglasausstrich wird dreimal durch die Flammen gezogen, dann tropft man auf die bestrichene Fläche des Deckglases eine Methylenblaulösung (alkoholisch-wässerige Lösung im Verhältniss von 1 : 10 : 100), erwärmt über der Flamme bis zum Aufkochen und spült hernach reichlich mit Wasser ab. Nun bringt man eine Fuchsinlösung (alkoholisch-wässerige Lösung im Verhältniss wie oben) auf das Deckglas, lässt dieselbe höchstens 5 Sekunden einwirken, spült wiederum ab und untersucht wie gewöhnlich.

Nach dieser Färbung erscheinen die Bakterienzellen dunkelblau, die Hülle leicht rosaroth und ihr Kontour dunkelroth. Die Kontraste treten bei stärkerer Vergrösserung besonders deutlich hervor.

Eine sehr empfehlenswerthe, einfache und sichere Methode der Färbung hat Olt angegeben. Als Farbstoff wird eine 3%ige wässerige Safraninlösung benutzt. 3 Grm. pulverisirtes Safranin werden in 100 Grm. destillirtem, nahezu siedendem Wasser gelöst und nach dem Erkalten filtrirt. Das luft-

trockene, dreimal durch die Flamme gezogene Deckglaspräparat wird mit Safraninlösung beschickt und nach einander einigemale über die Flamme gehalten, bis zum jedesmaligen Aufkochen der die ganze Fläche des Deckglases deckenden Farbflüssigkeit. Nach dem Abspülen mit Wasser wird in Wasser untersucht.

Die Bakterienzellen erscheinen nach dieser Methode rothbraun gefärbt, die Hülle quittengelb mit rothbraunem feinen Kontour.

Die Milzbrandbacillen färben sich auch nach der GRAM'schen Methode. Diese eignet sich auch gut zur Färbung der Bacillen in Schnitten. Nach Vorfärbung der Schnitte mit Lithionkarmin giebt auch die WEIGERT'sche Methode sehr schöne Bilder.

Die Färbung der Milzbrandsporen gelingt ganz gut nach einer von NEISSER angegebenen Methode. Danach werden die lufttrockenen und dreimal durch die Flammen gezogenen Deckgläschen mit der bestrichenen Seite nach unten auf eine Karbolfuchsinlösung gelegt, so dass sie schwimmen. Diese Lösung wird auf ca. 90° ½—1 Stunde erwärmt. Dann werden die Deckgläschen abgespült, darauf entfärbt durch Eintauchen in 20%ige Salpeterlösung und hierauf vorsichtig in 60%igem Alkohol abgespült, bis keine Farbe mehr abgegeben wird. Nach nochmaligem Abspülen in Wasser wird mit verdünnter Methylenblaulösung nachgefärbt. Die Sporen sind roth, die Bacillen blau gefärbt. Weniger zeitraubend und doch recht zuverlässig ist eine von MÖLLER angegebene Methode. Hiernach wird das lufttrockene Deckglaspräparat dreimal durch die Flamme gezogen oder 2 Minuten in absoluten Alkohol gebracht, sodann 2 Minuten in Chloroform, darauf mit Wasser abgespült und ½—2 Minuten in 5%ige Chromsäure getaucht. Nach dem gründlichen Abspülen mit Wasser wird das Deckglas mit Karbolfuchsin bedeckt und unter einmaligem Aufkochen 1 Minute in der Flamme erwärmt, worauf das Karbolfuchsin abgegossen wird und das Deckgläschen bis zum Entfärben in 5%ige Schwefelsäure getaucht und abermals gründlich mit Wasser abgespült wird. Darauf färbt man 30 Sekunden lang mit einer wässerigen Lösung von Methylenblau oder Malachitgrün. Die Sporen sind dann roth, die Bakterienkörper blau oder grün gefärbt.

Litteratur: JOHNE (Deutsche Zeitschr. f. Thiermed., 1894), KLETT (Deutsche thierärztl. Wochenschr. 1894), OLT (ebenda 1899), MÖLLER (Centralbl. f. Bakt., Bd. 10).

Künnemann, Breslau.

Mist als Nährboden für Pilze siehe Pilze.

Mitochondria, Färbung der. Als Mitochondria, Fadenkörner, habe ich einen körnigen Bestandtheil des Cytoplasmas bezeichnet, der offenbar zum Theil mit früher beschriebenen Cytomikrosomen und Granulationen identisch ist, sich aber durch seine besondere Stellung in der Architektur vieler Zellarten und seine Verwendung bei der Entstehung einer Anzahl funktioneller Strukturen des Zellleibes auszeichnet. Er findet sich bei vielen indifferenten Zellen als Theil der Sphäre, so besonders bei den Blastomeren, den Spermatogonien, bei vielen Oberflächen- und Drüsenepithelien als Bestandtheil cytoplasmatischer Fäden und bildet zusammen mit dem Cytoplasma durch starke Vermehrung und Zusammenlagerung Zellorgane, die ich als Chondriomiten bezeichne, unter denen der Spiralfaden und andere Manteltheile der Spermien, die Cilienwurzeln der Wimperzellen, die Basalfilamente und Pallisadenstrukturen der Nieren und Speichelröhrenzellen, endlich die Querstreifen der Muskelfibrillen die wichtigsten sind. Zu diesen Beobachtungen hat sich eine von mir gefundene Methode, sie isolirt zu färben, als unbedingt nöthig erwiesen, während die Erkennbarkeit der Körner von gutem Sublimat, Flemming, Hermann, Formol-Chromsäure- und besonders auch an Altmannhärtungen mit mannigfachen Färbungen und

sogar ohne Färbung nachzuweisen ist. Meine kürzlich (Verhandl. der anat. Gesellschaft, Bonn 1901) mitgetheilte Methode ist die folgende:

I. Härtung. 1. Die lebensfrischen kleinsten Gewebsstücke kommen für acht Tage in eine ziemlich reichliche Menge der starken FLEMMING'schen Mischung (15 Vol. 1%iger Chromsäure, 4 Vol. 2%iger Osmiumsäure, 6 Tropfen Eisessig).

NB. Die erlaubte Grösse der Stücke ist von der Dichtigkeit des Gewebes abhängig. Sehr lockere Organe, wie Rattenhoden, werden noch in etwas dickeren, aber auch höchstens 2—3 Mm. dicken Stücken gleichmässig durchdrungen. Grosse Schwierigkeit macht z. B. Säugethierleber, bei der meist nur eine schmale oberflächliche Schale jedes konservirten Stückchens eine genügende Härtung erhält. Man knipst am besten von den Organen kleinste Scheibchen mit einer scharfen Schere ab.

2. Nach flüchtiger Wässerung (ca. 1 Stunde) kommen die Stückchen auf 24 Stunden in ein Gemisch von Acet. pyrolignosum rectificatum und Sol. acid. chromic. (1 : 100) aa.

3. Auf 24 Stunden in Sol. Kali bichromic. 2 : 100,0.

4. 24 Stunden in mehrfach erneuertes Wasser.

5. Alkohol in steigender Koncentration, Paraffindurchtränkung.

NB. Die Stücke sind nach der Härtung und Wässerung makroskopisch goldbraun, ohne intensivere Osmiumschwärzung, sofern nicht etwa besonders fettreiches Gewebe vorliegt. Es empfiehlt sich, der Härtung die Paraffindurchtränkung gleich anzuschliessen, da sich das Material bei längerem Verweilen im Alkohol wieder etwas ändert, während es nach Paraffindurchtränkung unbegrenzt die gleiche Färbfähigkeit behält.

II. Färbung. 1. Die etwa 5 μ dicken Schnitte werden mit Wasser auf dem Deckglas aufgeklebt, vom Paraffin befreit, mit Alkohol, dann Wasser behandelt, und kommen auf 24 Stunden in 4%ige wässerige Eisenalaunlösung.

2. Nach Abspülen in fliessendem Wasser kommen die Deckgläschen in eine bernsteingelbe wässerige Lösung von subalizarinsaurem Natron (KAHLBAUM), welches ich durch Einträufeln einer gesättigten alkoholischen Lösung in Aqua destillata herstelle. Sie verbleiben hierin 24 Stunden.

NB. Die Schnitte müssen frei von der Farbe bespült sein; ich lege deshalb die Deckgläschen in eine flache Schale nebeneinander mit der beklebten Seite nach oben.

3. Nach Abtrocknen mit Fliesspapier kommt jedes Deckgläschen in ein Uhrschälchen mit meinem haltbaren Krystallviolettgemisch und Wasser zu gleichen Theilen.

NB. Das Krystallviolettgemisch besteht aus 1 Vol. kalt in 70%igem Alkohol gesättigter Krystallviolettlösung, 1 Vol. Salzsäurealkohol (1 Acid. hydrochloric., 70 Alkohol, 30 Wasser) und 2 Vol. Anilinwasser.

4. Die Lösung wird erwärmt, bis Dämpfe aufsteigen, dann 5 Minuten abkühlen.

5. Abtrocknen mit Fliesspapier, dann 1 Minute in 30%ige Essigsäure.

6. Abtrocknen mit Fliesspapier, Eintauchen in Alkohol absolutus, bis keine gröbere Farbstoffwolken abgehen, Xylol, Balsam.

NB. Wenn man guten Alkohol absolut. verwendet, kann man die Deckgläschen (nach G. FRITSCH) auch direkt auf Balsam legen.

Der schwierigste Theil der Operation ist die Abspülung in Alkohol. Wenn man zu lange hier verweilt, werden die Fadenkörner entfärbt, und man muss alsdann die Färbung von 3. an wiederholen. Sind dagegen noch andere Theile mitgefärbt, so kann man nach Entfernung des Balsams durch Xylol noch vorsichtig mit Kreosot nachdifferenziren, wobei man am vortheilhaftesten das Kreosot dem Xylol zusetzt, um den Lösungsprocess des Krystallvioletts zu verlangsamen.

In gelungenen Präparaten sind die Kerne dunkelbraunroth, die Cytoplasmafäden hellbraunroth, ebenso das Archiplasma (Idiozoma), die Centralkörperchen haben eine dunkle röthlichviolette Farbe. Manche Sekretgranula sind blassviolett.

Die Mitochondria und ihre Derivate sind von intensiv violetter Farbe und so scharf abgegrenzt, dass sie oft wie Bakterien erscheinen.

Die beiden wesentlichen Neuerungen des Verfahrens, die sich auch für andere cytologische Methoden bewährt haben, sind erstens die Postchromirung des mit Chromosmiumsäure gehärteten Materials, zweitens die Anwendung der zwischen Eisenalizarin und basischen Anilinfarben entstehenden Doppellacke. Die Postchromirung, deren Ergebnisse bei Formol- oder Alkoholhärtung mehrfach verwerthet worden sind, bietet bei Flemming-scher Härtung nur den Vortheil. dass Härtungsergebnisse, die auch ohne Postchromirung gelegentlich gelingen, mit grösserer Sicherheit eintreten; wie für die Mitochondria zeigt sich diese Erfahrung auch hinsichtlich der Cytoplasmafäden und der Centralkörperchen, die an den postchromirten Stücken mit geeigneten Färbungsmethoden vorzüglich darstellbar sind.

Bei Verwendung der Eisenalizarindoppellacke kommt eine Beizung durch Eisenalizarin für die basischen Anilinfarben zustande, durch welche die basischen Anilinfarben auch solchen Gewebsbestandtheilen angelagert werden, für welche sie sonst keine Affinität besitzen, wie dies namentlich auch in der Färbung der Neuroglia mit derartigen Verfahren (s. d.) zum Ausdruck kommt. Zum Schluss ist noch zu bemerken, dass die Mitochondria an demjenigen Material, an dem ihre Darstellung mit dem Eisenalizarindoppellack gelingt, auch mit Eisenhämatoxylin gefärbt werden können, wenn man wie bei der Heidenhain'schen Färbung mit Eisenalaun beizt, mit wässerigem Hämatoxylin stark überfärbt und mit Eisenalaunlösung differenzirt, oder wenn man an letzterer Stelle statt Eisenalaun das von Weigert für die Markscheidenfärbung angegebene Gemisch von Borax und rother Blutlaugensalzlösung benützt.

Benda, Berlin.

Mitosen siehe Kerntheilung.

Mittellamelle siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Mollusken. Die Organisation der Mollusken macht es in vielen Fällen nöthig, die Thiere vor der eigentlichen Fixation der Gewebe abzutödten oder doch reaktionslos zu machen. Diesen Zweck kann man bei fast allen Ordnungen, mögen es nun Land- oder Wasserbewohner sein, dadurch erreichen, dass man die Thiere in ein kleines Quantum abgekochten Wassers bringt. Nach 24 Stunden sind sie dann völlig reaktionslos geworden, liegen gut ausgestreckt und lassen sich leicht aus ihrer Schale entfernen.

Neben dieser einfachen Erstickungsmethode hat man dann dem Wasser noch verschiedene narkotisirend wirkende Zusätze gemacht, um schneller zum Ziele zu kommen. So kann man in das Wasser Tabaksrauch einblasen. Meistens aber setzt man dem Wasser Alkohol, und zwar bis zu 5% zu. Am besten geht man so vor, dass man auf die Oberfläche des die Thiere enthaltenden Wassers eine kleine Menge starken Alkohols giesst (Carazzi), nach 6—12—24 Stunden, je nach der Art und Grösse des Thieres tritt dann völlige Reaktionslosigkeit ein. Diese Methode eignet sich für die meisten Mollusken, nur für die grösseren Cephalopoden ist sie nach unseren Erfahrungen ungeeignet, da der Alkohol bei ihnen ein heftiges und langdauerndes Excitationsstadium hervorruft.

Ein anderes zur Narkose der Mollusken sich empfehlendes Mittel ist das Chloralhydrat, das man dem Wasser zu 2—3% zusetzt (Vogt und Young). Hatschek und Cori benutzen für Helix pomatia zunächst 24 Stunden eine 1‰ige Lösung, dann ebensolange eine 5%ige.

Etwas rascher kommt man zum Ziel, wenn man nach HOFER dem Wasser 0,5—0,1 % Hydroxylamin zusetzt.

LO BIANCO empfiehlt Zusatz von 1—2 % Cocaïnum hydrochloricum. Man kann dieses Mittel aber auch bei grösseren Gastropoden und Cephalopoden subkutan injiciren (ROBERT). Es genügt dann meist eine Pravazspritze einer 5—10 %igen Lösung.

Von anderen subkutan zu verwendenden Narkoticis wird von HEYMANS das Bromäthyl empfohlen (0,3—0,6 Ccm.). Cephalopoden werden dadurch völlig gelähmt, während die Athmung ruhig weiter geht. Grossen marinen Prosobranchiern (Tritonium) injicirt SCHOENLEIN eine Pravazspritze einer 4 %igen Lösung von Pelletierinum sulfuricum.

Zur Totalfixation kleinerer Mollusken finden die auch sonst in der Mikrotechnik benutzten Fixationslösungen Verwendung. Im allgemeinen werden Sublimat und Sublimatgemische bevorzugt, daneben sind auch Pikrinschwefelsäure, Chromsäure (0,5—1 %), PERÉNJI'sches Gemisch und in neuerer Zeit auch Formol (10 %ig, für marine Formen in Seewasser gelöst) empfohlen.

Für den Darmtraktus eignet sich am meisten Sublimat oder Formol. DE BRUYNE fixirt die Leber von Paludina tage- und wochenlang in HERMANN'scher Lösung, MAC MUNN in 20—30 %igem Formol. Auch für die Speicheldrüsen der Cephalopoden ist Formol (4—10 % in Seewasser) entschieden das beste Fixativ (R. KRAUSE).

Zur Maceration des Darmepithels behandelt ENGELMANN mit 0,2 %iger Osmiumsäure, koncentrirter Borsäure oder Salicylsäure bis zu einer Stunde lang. Um die Absonderungsverhältnisse in den Nieren zu studiren, empfiehlt SCHOPPE Fixation in absolutem Alkohol oder CARNOY'schem Gemisch, da sich in allen anderen Fixationsflüssigkeiten die Harnkügelchen lösen. Man kann auch Schnitte von solchem Materiale färben, wenn man sie für wenige Sekunden in Eisenalaun und Hämatoxylin bringt. RANKIN fixirt das BOJANUS'sche Organ durch Injektion von schwacher Osmiumsäure und Weiterbehandlung in Ammoniumbichromat. Zur Maceration eignet sich 2 %iges Bichromat. Die Tintendrüse fixirt GIROD entweder in 1 %iger Osmiumsäure oder taucht zunächst in eine dünne Lösung von Gummi arabicum und fixirt dann in absolutem Alkohol.

Zur Fixation der Kiemen der Acephalen empfiehlt JANSSENS Injektion von Sublimat-Salpetersäure nach GIESON. Die Darstellung der Bluträume der Kiemen gelingt am besten durch Injektion von einem Kiemengefäss aus. Man injicirt, ohne die Kanüle zu entfernen, hintereinander 0,1 %ige Osmiumsäure, destillirtes Wasser, 0,5—0,1 %iges Silbernitrat, destillirtes Wasser. Dann legt man in 70 %igen Alkohol ein und lässt darin die Reduktion vor sich gehen.

Die Injektion der Blutgefässe erfolgt bei Cephalopoden leicht vom Herzen oder der Aorta cephalica aus. auch bei Lamellibranchiern und Gastropoden bindet man die Kanüle am besten in das Herz ein. Venöse Injektionen erhält man leicht durch Einstich in den Fuss, Einbinden in einen Fühler oder Einstich in den Hauptsinus dicht hinter dem Kopf (Cephalopoden). Man wählt zu diesen Versuchen am besten leicht flüssige Massen und muss sich hüten, dabei die Thiere zu stark zu erwärmen. FLEMMING tödtet die zur Injektion bestimmten Muscheln, indem er sie zunächst in einer Kältemischung frieren lässt und dann ½ Stunde in lauwarmem Wasser wieder aufthaut.

Blut kann man zur histologischen Untersuchung leicht aus dem Herzen entnehmen. Bei Lamellibranchiern reinigt CATTANEO erst gut die Schale und trocknet sie sorgfältig ab, dann sticht er in der Schlossgegend, ohne die Schale zu öffnen, in das Herz ein, sammelt das austretende Blut und fixirt

auf dem Objektträger in 1%igem Palladiumchlorür. GRIESBACH bedient sich zum Einstich einer scharf geschliffenen Hohlsonde. Bei Cephalopoden kann man ein Stück der Aorta abbinden, herausschneiden und in toto fixiren.

Zum Studium der Geschlechtsorgane ist neben FLEMMING'scher Flüssigkeit (LEE für Helix, PLATNER für Limax), auch HERMANN'sche Flüssigkeit (DE BRUYNE für Paludina), Sublimat (GODLEWSKI für Helix, OBST für Helix und Limax), Sublimateisessig (MEVES für Paludina) empfohlen worden

Zur Darstellung der peripheren Nervenendigung eignet sich vor allem die Osmiumsäure (FLEMMING) und die Vergoldung (GRIEB für Darmnerven. GABAZZI für die Nervenendigungen im Schliessmuskel), aber auch die Methylenblaufärbung ist mit Erfolg verwandt worden (FREIDENFELT färbt die Mantelnerven von Maitra durch Einlegen (mehrere Stunden) des aus der Schale genommenen Thieres in dünne Methylenblaulösung). RAWITZ fixirt zum Studium der Nervenendigung den Mantel der Acephalen 4—6 Wochen lang in 5%igem Bichromat, KREMBZOW die Haut von Opistobranchiern in Sublimatessigsäure (2%ig). Das Centralnervensystem der Mollusken ist schon wiederholt mittelst der Golgimethode untersucht worden, so behandelt SMIDT die Ganglien von Helix 8—10 Tage mit Osmiumbichromat, dann sechs Tage und länger mit Silbernitrat. NABIAS schliesst dasselbe Objekt nach der Osmiumbichromatbehandlung zunächst in Celloidin ein und behandelt erst die Schnitte mit Silbernitrat. Zur Fixation der Nervenzellen eignet sich nach MC. CLURE am besten Flemming oder Sublimat, nach CARAZZI (für Cephalopoden) 25—30%iges Formol in Seewasser, nach 24 Stunden rasch abwaschen in 70%igem Alkohol, dann für 24 Stunden in koncentrirtes Sublimat und Ueberführen in 95%igen Alkohol mit Jod. NABIAS fixirt 1 Stunde lang in absolutem Alkohol mit 6% Eisessig oder in 5%igem Sublimat mit 5% Essigsäure.

Die Augen der Lamellibranchier fixirt HESSE entweder in Pikrinschwefelsäure oder in koncentrirtem Sublimat mit 5% Eisessig oder in 10%igem Formol. Entpigmentiren mit Chromsalpetersäure. Für das Heteropodenauge ist Formol am geeignetsten. Fixirt man in Sublimat und bringt dann in Wasser, so quillt der Glaskörper so stark, dass er die vordere Augenwand sprengt. Man kann dann ohne Schaden für die Netzhaut die Linse entfernen. Die Netzhaut der Cephalopoden fixirt sich am besten in Sublimateisessig oder Formol. Für letzteren Zweck empfiehlt GRENACHER Pikrinschwefelsäure oder koncentrirte Lösung von Sublimat in Pikrinschwefelsäure. V. LENHOSSÉK und KOPSCH behandeln die Netzhaut der Cephalopoden nach GOLGI, letzterer indem er die Osmiumsäure durch Formol ersetzt. (Näheres siehe Golgimethode.) FLEMMING fixirt den Augenfühler von Gastropoden in 4%igem Bichromat, worin er sich wieder umstülpt, CARRIÈRE das gleiche Objekt in Osmiumdämpfen.

Embryologisches. Die Eier der Mollusken werden bei den Wasserbewohnern in den meisten Fällen in Form eines Laiches in einer Gallertmasse eingeschlossen abgelegt, so bei den meisten Gastropoden (Süsswasserpulmonaten, Opisthobranchier, Pteropoden und Heteropoden); bei den Landpulmonaten kommt es schon zu einer diese Gallertmasse umhüllenden festen Membran und bei den Prosobranchiern und noch mehr bei den Cephalopoden werden die Eier von einer festen, oft hornartigen Kapsel eingeschlossen. Die primitivsten Formen zeigen die Eier der Lamellibranchier, die nur von einer mehr oder weniger zarten Dotterhaut umgeben sind. Vivipar sind zahlreiche Formen, so die Süsswasserlamellibranchier, unter den Gastropoden Paludina, manche Helix- und Crepidulaarten.

Nur die hartschaligen Eier der Cephalopoden müssen vor der Fixation aus ihrer Schale entfernt werden, die übrigen können in ihrer Gallerte fixirt eventuell in der Fixationsflüssigkeit zerzupft werden. Zur Isolation der

fixirten Eier aus der Gallerte lässt man sie am besten einige Tage in Drittelalkohol liegen, man kann dann die Gallerte leicht entfernen. Aeltere Embryonen wird man häufig vor der Fixation durch 2%iges Cocaïn oder Chloralhydrat lähmen oder mit heisser Fixationslösung übergiessen müssen, da sie sonst zu formlosen Klümpchen sich zusammenziehen.

Lamellibranchier. Meisenheimer fixirt Furchungsstadien von Dreissenia in Sublimat oder Pikrinschwefelsäure, ältere Stadien in Hermann'scher oder Zenker'scher Flüssigkeit. Sobald die Larve einmal die Schale entwickelt hat, muss sie vor der Fixation durch vorsichtigen Zusatz von Cocaïn gelähmt werden. Lillie fixirt die Eier von Unio in Perénji, ältere Stadien in Sublimat, Larven in 0,1%iger Osmiumsäure. Stauffacher fixirt Embryonen von Cyclas in Sublimat.

Gasteropoden. Conklin fixirt die Eier von Crepidula 15—30 Minuten in Pikrinschwefelsäure und überträgt dann in 70%igen Alkohol. Kostanecki und Wierzejski fixiren die Eier von Physa entweder in 2%iger Salpetersäure oder in einer Mischung von zwei Theilen koncentrirten wässerigen Sublimats und 1 Theil 3%iger Salpetersäure. Erstere fixirt besser das Plasma, letztere die Kerne. Kofoid entfernt bei den Eiern von Limax zunächst in physiologischer Kochsalzlösung die Hüllen und das Eiweiss und fixirt dann in Flemming-scher Flüsssigkeit. Schmidt fixirt dasselbe Objekt in gleicher Weise in Sublimat. Byrnes fixirt dasselbe Objekt zunächst in koncentrirtem Sublimat mit 5% Eisessig so lange, bis die Eier vollkommen weiss sind, bringt sie dann in Wasser, in welchem die Hüllen entfernt werden und legt sie noch für 15 Minuten in schwache Flemming'sche Flüssigkeit. Meisenheimer (1896) fixirt Embryonen von Limax in Pikrinschwefelsäure oder koncentrirtem Sublimat. Um ältere Embryonen gut ausgestreckt zu erhalten, übergiesst er sie mit der heissen Fixationslösung. Um ganz junge Stadien von Limax zu erhalten, schneidet Washburn ein trächtiges Thier auf, bringt es für eine Minute in kochendes Sublimat, dann holt er in Wasser die Eier heraus, entfernt die Hülle in demselben und überträgt in steigenden Alkohol. Für Helix empfiehlt Henneguy Pikrinsalpetersäure. Das koagulirte Eiweiss wird mit Nadeln vorsichtig entfernt. Henchman entfernt bei demselben Objekt zunächst die äussere Hülle, legt in 0,3%ige Chromsäure und entfernt darin das Eiweiss. Man kann auch den Embryo erst vollständig freimachen und in Perénji's Gemisch fixiren. v. Erlanger fixirt die Embryonen von Planorbis und Limnaeus in Flemming'scher Flüssigkeit oder in Pikrinschwefelsäure mit Zusatz von etwas Osmiumsäure oder in koncentrirtem wässerigen Sublimat mit Zusatz von 1/4 Volum Eisessig und 1/4 Volum Glycerin. Holmes befreit die Eier von Planorbis von den Kapseln und bringt sie im Sonnenlicht in 0,75%ige Höllensteinlösung. Man beobachtet unter dem Mikroskop und bringt die Eier, sobald die Zellgrenzen deutlich werden, für wenige Sekunden in Wasser, dem einige Tropfen einer 0,2%igen Lösung von unterschwefligsaurem Natron zugesetzt sind, dann wenige Minuten in koncentrirte wässerige Pikrinsäure, dann durch Alkohol in Balsam. Bloch befreit die aus dem Uterus entnommenen Eier von Paludina durch Anstechen von ihrer Hülle, spült sie zur Entfernung des Eiweisses in Kochsalzlösung ab und fixirt in Pikrinsalpetersäure; Tönniges empfiehlt für dasselbe Objekt Pikrinschwefelsäure, der man für ältere Stadien etwas Osmiumsäure zusetzt. Georgewitsch fixirt die Eischnüre von Aplysia in Sublimatsalpetersäure nach Gieson und bewahrt in 90%igem Alkohol auf. Will man die Eier isoliren, so überträgt man sie in dünnen (35%igen) Alkohol, indem sie mit Nadeln leicht herausgeholt werden können. Am instruktivsten sind Totalpräparate nach Färbung in Boraxkarmin. Mazzarelli fixirt das gleiche Objekt in toto 1/2 Stunde und länger in Pikrinschwefelsäure, eventuell mit geringem Osmiumzusatz, wäscht in Wasser aus und isolirt dann die Embryonen

in dünnem Alkohol; Bochenek fixirt in Perénji, Carazzi erhielt damit keine guten Resultate, er fixirt in 5%igem Sublimat mit 2½% Eisessig oder in Pikrinsublimatessigsäure.

Cephalopoden. Korschelt fixirt Cephalopodeneier hauptsächlich in 0,1%iger Chromsäure und überträgt dann in Pikrinsäure. Ussow benutzt 2%ige Chromsäure, lässt die Eier 2 Minuten darin und öffnet sie dann in schwachem Essigwasser. Watasé fixirt in gleichen Theilen einer 0,05%igen Osmiumsäure und 0,2%iger Essigsäure oder in Perénji. Wenn das Blastoderm undurchsichtig ist, wird es losgelöst und in Glycerin übertragen. Vialleton fixirt die Eier von Sepia in Pikrinschwefelsäure oder Flemming'schem Gemisch. Faussek zerzupft die Eigallerte von Loligo möglichst gut und bringt sie in Pikrinschwefelsäure, dann Alkohol, 24 Stunden Färben in Hämalaun und Uebertragen in 1%ige Alaunlösung, in der sich die Eier leicht ausschälen lassen. Der Dotter der Cephalopodeneier bröckelt beim Schneiden sehr leicht, man muss deshalb vor jedem Schnitt den Block mit Mastixkollodium bestreichen.

Litteratur: Carazzi (Mitt. Zool. Stat. Neapel, Bd. 12, 1896), Hatschek und Cori (Elementarkurs der Zootomie, Jena 1896), Lo Bianco (Mit. Zool. Neapel, Bd. 9, 1890), Robert (Bull. scient. France Belgique, Bd. 22, 1890), Heymans (Bull. Acad. Roy. Sc. Belgique, Bd. 32, 1896), Schoenlein (Zeit. Biol., Bd. 30, 1893), de Bruyne (Bull. Acad. Roy. Sc. Belgique, Bd. 30, 1895), Mac Munn (Phil. Trans., Bd. 193, 1900), R. Krause (Sitz. Preuss. Ak. Wiss., 1897), Engelmann (Pflüger's Arch., Bd. 23, 1880), Schöppe (Anat. Hefte, 23. 1897), Rankin (Jena. Zeit. Nat., Bd. 24, 1890), Janssens (Cellule, Bd. 9, 1892), Girod (Arch. Zool. expér., Bd. 10, 1882), Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 15, 1878), Cattaneo (Boll. Scient. Pavia. Anno 11, 1889), Griesbach (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Lee (Cellule, Bd. 11, 1895), Platner (Arch. mikr. Anat., Bd. 33, 1889), Godlewski (Anz. Akad. Wiss.. Krakau 1897), Obst (Zeit. wiss Zool., Bd. 66, 1897), Meves (Arch. mikr. Anat.. Bd. 56, 1900), Grieb (Mem. Soc. ital. Sc., Bd. 6, 1887), Gabazzi (Arch. it. Biol., Bd. 10, 1888), Freidenfeld (Zool. Jahrb., Bd. 9, 1896), Rawitz (Jena. Zeit. Nat., Bd. 20, 1887), Krembzow (Arch. mikr. Anat., Bd. 59, 1901), Smidt (ebenda. Bd. 55, 1900), Nabias (Recherches hist. et organ. centres nerveux Gastéropodes, Bordeaux 1894), Mac Clure (Zool. Jahrb., Bd. 11, 1897), Carazzi (cit. Lee u. Mayer [Grundzüge. pag. 423]), Hesse (Zeit. wiss. Zool., Bd. 68, 1900), Grenacher (Abh. Nat. Ges. Halle, Bd. 16, 1886), v. Lenhossék (Zeit. wiss. Zool., Bd. 58, 1894), Kopsch (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd 6, 1870), Carrière (Zool. Anz., Jahrg. 9, 1886), Meisenheimer (Zeit. wiss Zool., Bd. 69, 1901), Lillie (Journ. Morph., Bd. 10, 1895), Stauffacher (Jena. Zeit. Nat., Bd. 28, 1893), Conklin (Journ. Morph.. Bd. 13, 1897), Kostanecki und Wierzejski (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), Kofoid (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard. Bd. 27, 1895), Schmidt (Entwicklungsgeschichte der Pulmonaten, Dorpat 1891), Byrnes (Journ. Morph., Bd. 16, 1900), Meisenheimer (Zeit. wiss. Zool., Bd. 62, 1896), Washburn (Amer. Nat., Bd. 18, 1894), Henchman (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard.. Bd. 20, 1890), v. Erlanger (Arch. Biol., Bd. 14, 1895), Holmes (Journ. Morph., Bd. 16, 1900), Bloch (Jena. Zeit. Nat., Bd. 30, 1896), Tönniges (Zeit. wiss. Zool., Bd. 61, 1896), Georgewitsch (Anat Anz., Bd. 18, 1900), Mazzarelli (Mem. Soc. ital. Sc., Bd. 9, 1893), Carazzi (Anat. Anz., Bd. 17, 1900), Korschelt (Fest. f. Leuckart, 1892), Ussow (Arch. Biol., Bd. 2, 1881), Watasé (Journ. Morph., Bd. 4, 1891), Vialleton (Annal. Sc. nat., Bd. 6, 1887), Faussek (Mit. Zool. Stat. Neapel, Bd. 14, 1900).

Molluskoideen. Um Bryozoën in gut entfaltetem Zustand konserviren zu können, empfiehlt es sich, die Thiere zunächst zu narkotisiren. Hierzu eignet sich vor allem eine 10%ige Lösung von Chloralhydrat, in die man die Kolonien für wenige Minuten überträgt (Verworn). Ausserdem ist empfohlen worden Cocaïn (Conser, Richard, Ladewig) in 1%iger Lösung in kleinen Mengen dem die Thiere enthaltenden Wasser zugesetzt (man muss dabei sorgfältig jede Erschütterung vermeiden); Cori setzt dem Wasser nach und nach kleine Mengen des folgenden Gemisches zu: absoluter Methylalkohol 1 Theil, physiol. Kochsalzlösung 9 Theile und einen oder mehrere Tropfen Chloroform. Man fährt mit dem Zusatz so lange fort, bis die Thiere nicht mehr reagiren. Nach seiner Erfahrung wirkt Chloralhydrat zu stark macerirend.

Von Fixationsmitteln sind empfohlen worden vor allem das Sublimat von Braem, Verworn, Davenport (Fixationsdauer 10—15 Minuten), Sublimat-

essigsäure von SEELIGER (konc. in Seewasser mit 2% Säure), es ist nach LADEWIG das beste Fixationsmittel für Bryozoen. EHLERS fixirt Pedicellinen in Osmiumdämpfen und überträgt in steigenden Alkohol, CORI Cristatella in FLEMMING'scher Flüssigkeit, die nur $\frac{1}{100}$% Osmiumsäure enthält, oder in Platinchloridpikrinsäure. CALVET empfiehlt eine Mischung von 100 Theilen 0,3%iger Chromsäure und 1 Theil 3%iger Salzsäure. Bei Formen mit verkalkter Ektocyste empfiehlt DAVENPORT Fixation in Pikrinsalpetersäure, die man mit gleichen Theilen Meerwasser verdünnt. Für Brachiopoden eignet sich nach BLOCHMANN's Untersuchung am besten Fixation in Sublimat mit nachfolgender Entkalkung in 1%iger Chromsäure, in Chromsalpetersäure oder in alkoholischer Salpetersäure.

Litteratur: VERWORN (Zeit. wiss. Zool., Bd. 46, 1897), CONSER (Trans. Amer. Micr Soc., Bd. 17, 1896), RICHARD (Zool. Anz., Jahrg. 8, 1895), LADEWIG (Zeit. wiss. Zool., Bd. 67, 1900), BRAEM (Biblioth. Zool., Heft 6, 1890), DAVENPORT (Bull. Mus. Comp. Zoll. Harvard, Bd. 22, 1891). SEELIGER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 49, 1889), EHLERS (Mit. königl. Ges. Wiss. Göttingen, Bd. 26, 1890), CALVET (Contribut. Hist. Nat. Bryoz. Ectopr. Mar. Montpellier 1900), BLOCHMANN (Untersuchungen über den feineren Bau der Brachiopoden, Jena 1892).

α-Monobromnaphthalin, farblose, stark lichtbrechende, am Licht sich färbende Flüssigkeit. Spec. Gew. bei 12° = 1,503. In Wasser unlöslich, mischt sich mit Alkohol, Aether, Benzol, löst Naphthalin, Dibromnaphthalin, Jod, Quecksilberjodid, Oele, Fette, Lack u. s. w.

Monobromnaphthalin hat einen hohen Brechungsindex (1,661—1,662) und hat als Untersuchungsmedium Verwendung gefunden. Nach FLESCH sind die Präparate, die umrandet werden müssen, anfangs scharf, später weniger scharf. Bei einer Art homogener Immersionssysteme, die von ABBE berechnet und von ZEISS ausgeführt sind, wurde als Immersionsflüssigkeit Monobromnaphthalin angewandt (vgl. die Mittheilungen von VAN HEURCK und von CZAPSKI). Ferner hat Monobromnaphthalin bei der Untersuchung von Kieselablagerungen im Pflanzenkörper Verwendung gefunden (KÜSTER).

Litteratur: CZAPSKI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), FLESCH (Zool. Anz., 5 Jahrg., 1882), VAN HEURCK (Bullet. Sc. Belge Micr., Bd. 15, 1889), KÜSTER (Ber. Deutsch. bot. Ges., Bd. 15, 1897).

Mosse, Berlin.

Monophenylrosanilin siehe Dahlia.

Moose siehe Centrosomen in Pflanzen und Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen.

Morphin siehe Alkaloide, pflanzliche.

Morphium vergl. Art. Narkose.

Motorische Endplatten siehe Muskeln.

Muchämateïn siehe Hämateïn.

Mucikarmin siehe Karmin.

Mucikarminsäure siehe Karminsäure.

Mucin vergl. Schleimfärbung.

Mucin in Pflanzenschleimen. Im Schleime der Jamswurzeln (Dioscoraea japonica und Batatas) soll Mucin vertreten sein und im wesentlichen in seinen Eigenschaften mit dem thierischen Mucin übereinstimmen. Dieses Mucin löst sich schwer in 2%igem Aetzkali, in starken Mineralsäuren und koncentrirter Essigsäure. Es wird nicht angegriffen von künstlichem Magensaft, leicht aber von alkalischer Trypsinlösung. Koncentrirte Schwefelsäure der Essigsäuresolution zugesetzt, veranlasst Violettfärbung. Es gibt Xanthoproteïnreaktion und Biuretreaktion, und reducirt MILLON's Reagenz. (Nach Strassburger Practicum 1897.)

Litteratur: ISHII (Univ. Coll. of Agric. Bull. Bd. II, pag. 97, Tokio 1894.

Magnus, Berlin.

Mucorineen siehe Pilze.

Müller'sche Flüssigkeit siehe Chromsaure Salze.

Muskelfasern, quergestreifte. Zur Untersuchung der quergestreiften Muskelfasern eignen sich neben den am besten parallelfaserigen Muskeln (z. B. Sartorius) der Wirbelthiere vor allem die Muskeln der Arthropoden. Sie zeigen eine vorzügliche Querstreifung. ROLLETT, dem wir die ausführlichsten Untersuchungen über diesen Gegenstand verdanken, empfiehlt eine grosse Anzahl von Species, z. B. Hydrophilus piceus, Dyticus marginalis, Aphodius rufipes, Scarabaeus laticollis, Stenomax lanipes und viele andere. Sehr bequeme Objekte, die leicht erhältlich sind, bilden die Muskeln der Stubenfliege und des Flusskrebses. Bei ersterer braucht man nur ein Bein auszureissen, um genügendes Material zu erhalten, bei letzterem nimmt man die Scherenmuskeln.

Um die grossen, innerhalb der Leibeshöhle gelegenen Muskeln der Beine freizulegen, entfernt man z. B. bei Hydrophilus zunächst die Flügel, schneidet dann die weiche dorsale Körperwand am Rande entlang fort und entfernt vorsichtig, eventuell unter Schonung des Bauchstranges die Eingeweide.

Die Untersuchung wird am besten frisch in Körperflüssigkeit oder in filtrirtem Hühnereiweiss vorgenommen. Sehr gute Bilder der Querstreifung erhält man auch von Muskeln, die in starkem Alkohol (95%) 24—48 Stunden fixirt und dann in verdünntem Glycerin zerzupft wurden. Man kann die Muskeln auch nach der Alkoholbehandlung erst in Hämatoxylin färben. Von anderen Fixationsmitteln empfiehlt sich besonders die HERMANN'sche Flüssigkeit. Zur Fixation des Kontraktionszustandes empfiehlt RANVIER 1%ige Osmiumsäure. Nach HAUCK machen ZENKER'sche und FLEMMING'sche Flüssigkeit die Muskelfasern am meisten schrumpfen, MÜLLER'sche Flüssigkeit wirkt stark quellend; in der Mitte steht ungefähr Sublimat. RUTHERFORD fixirt in 10%igem Formol 48 Stunden lang, M' DOUGALL ebenso oder in 2%iger Chromsäure.

Ueber die färberische Darstellung der Muskelquerstreifung vergl. die Artikel: Neutralfärbungen für Muskulatur.

Um gute Querschnittsbilder von Muskeln zu erhalten, empfiehlt sich die Anfertigung von Gefrierschnitten. Man bringt frische Muskeln in Hühnereiweiss zum Gefrieren. Untersuchen in verdünntem Glycerin. Oder man bettet mit Alkohol behandelte Muskeln in Celloidin ein, färbt die Schnitte in Hämatoxylin und schliesst die Schnitte in Damarlack ein. Auch feine Schnitte getrockneter Muskeln liefern, in Wasser untersucht, gute Querschnittsbilder. RANVIER macht eine interstitielle Injektion von 1%iger Osmiumsäure in den Sartorius des Frosches, bringt dann in Alkohol und überträgt für 24 Stunden in Gummilösung. Wird dann der Muskel wiederum in Alkohol gebracht, so härtet das Gummi und es lassen sich leicht Querschnitte anfertigen, die man durch Einlegen in Wasser vom Gummi befreit und in Glycerin untersucht. ROLLET empfiehlt Muskeln für 5—15 Minuten in 0,5%iges Goldchlorid einzulegen, in der PRITCHARD'schen Flüssigkeit (Amylalkohol 1, Ameisensäure 1, Wasser 98) zu reduciren und dann auf dem Objektträger in querer Richtung mit einem scharfen Skalpell zu zerhacken. Man findet dann immer brauchbare Querschnittsbilder.

Zur Zerlegung der Muskelfasern in die Fibrillen sind die verschiedensten Mittel vorgeschlagen worden, Maceration in Wasser, Säuren (Salpetersäure, Königswasser, Borsäure Salicylsäure), Ammoniumbichromat, starke Salzlösungen (Kochsalz, Chlorkalium, schwefelsaures Natron), gleiche Theile einer Mischung von 0,05%iger Osmiumsäure und 0,2%iger Essigsäure und andere mehr. Zur Isolation der Muskelfasern selbst werden Kalilauge, Salpeter-

säure, Salpetersäure und Kaliumchlorat, schwefelige Säure, Holzessig empfohlen. (Näheres siehe bei Maceration.)

Um den Scheibenzerfall der Muskelfaser zu demonstriren, empfiehlt ROLLET vor allem die verschiedenen Aphodiusarten, ausserdem Hydrocharis caraboides, Scarabaeus laticollis, Opatrum subulosum und andere. Man tödtet das Thier durch Einlegen in 93%igen Alkohol und untersucht nach zwei- oder mehrtägigem Verweilen in demselben in verdünntem Glycerin.

Zur Demonstration des Sarkolemmas setzt man den in 0,6%iger Kochsalzlösung zerzupften Fasern reichlich destillirtes Wasser zu; so hebt sich an manchen Stellen das Sarkolemma recht gut ab. Noch besser soll nach SOLGER das Einlegen der Muskeln für 3—5 Minuten in eine kalt gesättigte Lösung von Ammoniumkarbonat wirken. Auch an nach der LÖWIT'schen Methode vergoldeten Muskelfasern erhält man häufig, besonders wenn die Fasern lange in der Säure gelegen haben, beim Zerzupfen ganz leere Sarkolemmschläuche.

Die Nervenendigungen an den quergestreiften Muskeln werden hauptsächlich mittels der Vergoldung untersucht. (Näheres siehe Goldmethoden pag. 449 ff.) Man kann dieselben an geeigneten Objekten (Brusthautmuskel des Frosches, Retractor bulbi der Katze, Muskeln von Lacerta, Hautmuskeln der Kreuzotter oder Ringelnatter) auch frisch oder noch besser nach Zusatz von dünner Essigsäure (1%) beobachten. Um den Brusthautmuskel des Frosches zu präpariren, macht man an dem narkotisirten und auf einem Präparirbrett fixirten Thier in der Mittellinie des Bauches einen Längsschnitt, der von der Symphyse des Unterkiefers bis zur Mitte des Abdomens reicht, hier wird eine zweite quere Incision bis zur Axillarlinie und von hier aus eine dritte, der ersten parallele bis zur Achselhöhle gemacht. Hebt man den so gebildeten Hautlappen in die Höhe, so liegt der Muskel frei und kann entweder an seiner Insertion abgetrennt, frisch untersucht oder vergoldet werden, oder man macht nach RANVIER unter den Muskel eine interstielle Injektion mit 1%iger Osmiumsäure. Der Muskel wird dann starr, kann abgelöst und in Kochsalz untersucht werden. Ein anderes gutes Objekt bilden die Fasern des Gastrocnemius vom Frosch. Vorzüglich eignen sich auch die kleinen Hautmuskeln der Schlangen. Bei einer tief chloroformirten und geköpften Ringelnatter, oder noch besser, Kreuzotter wird, nachdem das Thier auf einem langen Brett fixirt ist, in der Mittellinie des Rückens eine lange Incision gemacht und die Haut nach beiden Seiten kräftig abgezogen. Es springen dann sofort die kleinen Muskelchen hervor. Um dieselben in gedehntem Zustand zu untersuchen, löst man sie stumpf etwas von der Haut los, schiebt zwischen Haut und Muskel einen hölzernen, schmalen, gefensterten und mit Deckglas im Ausschnitt versehenen Objektträger ein, steckt den Muskel mit Nadeln oder Igelstacheln fest, schneidet dann die Insertionen los und bedeckt mit einem zweiten Deckglas.

COHNHEIM hat zur Untersuchung der Nervenendigungen im Muskel die Silberimprägnation verwendet. Ein Muskelstückchen wird in Blutserum gut zerzupft, passende Fasern 10—20 Sekunden in 2—3‰iges wässeriges Silbernitrat übertragen, am Sonnenlicht rasch reducirt und in 1%ige Essigsäure übertragen. Das Bild der Endplatte erscheint weiss auf dunkelbraunem Grunde.

Die Methylenblaufärbung der Muskelnerven kann entweder durch Injektion in die Blutgefässe oder durch Einlegen der Muskeln in dünne Methylenblaulösungen erfolgen. (Näheres siehe unter Methylenblau zur Nervenfärbung.)

Nach WOLFF erhält man ausgezeichnete Färbung der Muskelnerven, wenn man einen passenden Muskel (Brusthautmuskel, Mylohyoideus eines

lebenden frisch eingefangenen Frosches) mit Schonung der zutretenden Nerven und Gefässe unterminirt und in die entstandene Höhle $^1/_4$%ige Methylenblaulösung injicirt.

Auch durch Färbung frischer Muskeln mit Hämatoxylin soll man gute Bilder der Nervenendigung erhalten. NEGRO benutzt dazu ein etwas modificirtes DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Er löst 2 Grm. Hämatoxylin in 180 Ccm. einer koncentrirten wässerigen Lösung von Ammoniakalaun, lässt 8 Tage an der Luft stehen und fügt je 25 Ccm. Glycerin und Methylalkohol zu. Mit dieser Lösung werden die frischen Muskeln von Amphibien und Reptilien betropft.

Diese Methode ist dann später von SIHLER modificirt worden. Er macerirt kleine Muskelbündel 18 Stunden lang in einer Mischung von Glycerin 1 Ccm., Essigsäure 1 Ccm. und 1%igem wässerigem Chloralhydrat 6 Ccm. Statt der letzteren kann man auch schwache Sublimatlösung benutzen. Dann überträgt er für 1—2 Stunden in reines Glycerin, in dem die Bündel gespalten werden und färbt in EHRLICH'schem Hämatoxylin, dem er auf 1 Theil 1 Theil Glycerin und 6 Theile 1%igen wässerigen Chloralhydrats zusetzt. Entweder kann man mehrere Tage färben und in mit Essigsäure versetztem Glycerin differenziren, oder man färbt nur so lange, bis die Nervenendigungen deutlich sind, und schliesst in Glycerin ein, in welchem Borax gelöst ist.

Litteratur: ROLLET (Denk. kais. Akad. Wien, Bd. 49, 1885), derselbe (ebenda, Bd. 51, 1886), derselbe (ebenda, Bd. 53, 1887), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 32, 1888), RANVIER (Technisches Lehrbuch), HAUCK (Deutsch. Zeit. Nervenheilk., Bd. 17, 1900), RUTHERFORD (Journ. Anat. Phys., Bd. 31, 1897), SOLGER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), WOLFF (Arch. Anat. 1902), NEGRO (Arch. ital. Biol., Bd. 9, 1887), SIHLER (Verh. Physiol. Ges. Berlin, Jahrg. 1894/95), derselbe (Zeit. wiss. Zool., Bd. 68, 1900).

Muskeln, glatte. Zur Darstellung der Fibrillen in den glatten Muskelfasern empfiehlt ROUGET Maceration in 5%igem Königswasser oder Salpetersäure, ENGELMANN Drittelalkohol, 2—4%ige Lösung von Ammoniumbichromat oder koncentrirte wässerige Lösung von Borsäure oder Salicylsäure, starke Lösungen von Chlorkalium oder Chlornatrium. P. SCHULTZ macerirt zum gleichen Zweck 6—8 Tage in einer Mischung von gleichen Theilen 0,05%iger Osmiumsäure und 0,2%iger Essigsäure. APÁTHY behandelt den Darm von Ascaris mit MÜLLER'scher Flüssigkeit. Zur Färbung der mit Sublimat fixirten Präparate empfiehlt M. HEIDENHAIN Rubin, Chromhämatoxylin und Vanadiumhämatoxylin. v. LENHOSSÉK fixirt den ausgespannten und mit Igelstacheln aufgesteckten Katzendarm 6 Stunden lang in Sublimatalkohol von APÁTHY, dem er auf 75 Theile 25 Theile absoluten Alkohol und 5 Theile Eisessig zusetzt. Nach seinen Untersuchungen ist Cörulein S in Verbindung mit Toluidinblau das beste Färbungsmittel der Myofibrillen. Eisenhämatoxylin wirkt weniger günstig. Zur Darstellung der kontraktilen Fibrillen in den glatten Muskelfasern des Menschen bringt BENDA die ganz frischen Stücke auf 24 Stunden in 10%ige Salpetersäure (offic.), dann ohne auszuwaschen für 1—2 Tage in MÜLLER'sche Flüssigkeit oder 1%ige Citronensäure. Färbung mit Eisenhämatoxylin-Rubin. Die groben Zellfasern (Myoglia) werden folgendermassen sichtbar gemacht: Fixation 24 Stunden in ZENKER'scher Flüssigkeit, mehrere Stunden in Wasser auswaschen, Gefrierschnitte, 24 Stunden in $^1/_2$%iger Chromsäure, abspülen in Wasser, 3 Minuten in $^1/_4$%igem Kaliumpermanganat, abspülen in Wasser, 5 Minuten in das PAL'sche Säuregemisch, abspülen in Wasser, übergiessen mit Krystallviolettlösung (1 Theil kalt gesättigt in 70%igem Alkohol, 1 Theil Salzsäurealkohol, 2 Theile Anilinwasser), abtupfen mit Filtrirpapier, übergiessen mit verdünnter LUGOL'scher Lösung, abtupfen, trocknen und differenziren mit Anilin-Xylol (1 : 1).

Nach WERNER lässt sich durch Maceration in Kalilauge an den glatten Muskelfasern eine sarkolemmartige Umhüllung darstellen.

Zur Demonstration der viel diskutirten Zellbrücken der glatten Muskeln fixirt BARFURTH Magen und Darm von der Katze, Flexura sigmoidea vom Menschen in Chromessigsäure, Palladiumchlorür oder 0,15%iger Chromsäure. Färbung mit Boraxkarmin und Hämatoxylin. Die Zellbrücken sind nach KLECKI 2—3 Stunden nach reichlicher Fütterung am deutlichsten. BOHEMAN fixirt Magen und Darm von Katze, Hund, Schwein und Kaninchen in Sublimat oder Alkohol-Bichromat-Kupfersulfat nach KULTSCHITZKY. Färbung mit patentsaurem Rubin nach KULTSCHITZKY. Sehr gute Bilder ergab auch die Golgimethode. TRIEPEL empfiehlt den Mastdarm des Rindes, Fixation in 4%igem Formol, Färbung mit Hämatoxylin und neutralem Orceïn.

Das Bindegewebe der glatten Muskulatur lässt sich nach GARNIER vorzüglich am Oesophagus von Testudo graeca studiren, wo es sehr stark entwickelt ist. Fixation in Flemming, Färbung in Safranin-Lichtgrün. SCHAFFER bevorzugt zu demselben Zwecke die Gefässe des Nabelstrangs, fixirt in Pikrinsublimat und färbt nach VAN GIESON. Noch besser als diese Färbung eignet sich nach HENNEBERG Pikronigrosin.

HÖHL fixirt Froschmagen in Flemming und färbt in Eisenhämatoxylin-Rubin. Die beiden letzteren Autoren haben auch mit grossem Erfolg die Trypsinverdauung zur Darstellung des Bindegewebes herangezogen.

Ueber die färberische Differenzirung von glatten Muskeln und Bindegewebe vergl. man den Artikel Kollagen.

Litteratur: ENGELMANN (PFLÜGER's Arch., Bd. 25, 1881), P. SCHULTZ (Arch. Physiol., 1895), APÁTHY (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893). M. HEIDENHAIN (Ergebn. Anat., 1900), v. LENHOSSÉK (Anat. Anz., Bd. 16, 1899), WERNER (Inaug.-Diss., Dorpat 1894), BARFURTH (Arch. mikr. Anat., Bd. 38, 1891), KLECKI (Inaug.-Diss., Dorpat 1891), BOHEMAN (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), TRIEPEL (Anat. Anz., Bd. 13, 1897), GARNIER (Journ. de l'anat. physiol., Jahrg. 33, 1897), SCHAFFER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 66, 1899), HENNEBERG (Anat. Hefte, Bd. 13, 1900), HÖHL (Anat. Anz., Bd. 14, 1898), BENDA (Verh. anat. Ges. Halle, 1902).

Mycosin, Verwandlungsprodukt des Chitins, siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Myelin. Das Myelin der markhaltigen Nerven ist keine einheitliche Substanz, sondern setzt sich im wesentlichen zusammen aus Lecithin, Protagon, Kephalin, Fett und Cholestearin. Das Myelin quillt in Wasser auf und bildet kuglige oder keulenartige Gebilde. Mit koncentrirter Schwefelsäure behandelt zerfällt es und zeigt dabei eine der PETTENKOFER'schen Gallensäurereaktion ähnliche Verfärbung durch gelb, orange, roth bis zu violett. Bekannt ist die Wirkung der Osmiumsäure auf das Nervenmark, das durch sie tiefgeschwärzt wird. Behandelt man degenerirendes Mark zuerst mit Bichromat und dann mit Osmiumsäure, so tritt eine feine punktförmige Schwärzung auf.

Um das Myelin zu lösen, behandelt man die Nervenfasern zunächst mit 80%igem Alkohol bei 50°, dann successive mit siedendem Alkohol, Aether, Benzol, Eisessig und Chloroform oder man kocht mit Aetznatron. Bereits osmirtes Myelin lässt sich durch Behandlung mit Eau de Javelle entfernen.

Das Nervenmark färbt sich bekanntlich nach der WEIGERT'schen Methode intensiv schwarzblau, es beruht dies nach den Untersuchungen von WLASSAK wesentlich auf dem Gehalt des Markes an Protagon. Während das Fett seine Fähigkeit, durch Osmium geschwärzt zu werden, auch nach Behandlung mit Chromsalzen behält, verliert sie das Lecithin. Das letztere bedingt auch wesentlich, neben Cerebrin, das Zustandekommen der Schwefelsäurereaktion.

Myrosin siehe Enzyme.

Myronsaures Kali (Sinigrin) siehe Glykoside.

Myrtillus siehe Pflanzenfarbstoffe.

Myxomyceten oder Mycetozoen zu kultiviren gelingt allgemein nur für die Keimung der Sporen zu Schwärmern und den Uebergang zu Myxamöben. Ein durch die relative Grösse der Elemente besonders günstiges Objekt ist Chondrioderma difforme, das sich sehr häufig auf faulenden Blättern, Mist u. dergl. findet. Man kann sich mit ziemlicher Sicherheit Material verschaffen, wenn man im Herbst die längere Zeit im Felde stehenden, zu Bündeln vereinigten, trockenen Stengel von Vicia faba (Saubohne) kultivirt. Sie werden mehrere Stunden in Brunnenwasser aufgeweicht, dann in ein mit Glasscheibe bedecktes flaches Gefäss gebracht, dessen Boden mit mehreren Lagen angefeuchteten Fliesspapieres bedeckt ist. Die Sporen werden auf gut sterilisirtem Dekokt von Kohlblättern oder Fabastengeln ausgesäet. Es ist, da viel Sauerstoff gebraucht wird, zweckmässig, einige grüne Algenfäden, Spirogyra, Vaucheria oder dergl. mit einzuführen, wenn auch dadurch die Gefahr der Verunreinigung durch Bakterien sehr gross wird. Nach etwa 24 Stunden haben die Schwärmer die Sporen verlassen, später wird die Geissel eingezogen und es werden typisch amöbenförmige Bewegungen gemacht, dann tritt meistens, eventuell nach Vermehrung durch Zweitheilung, Encystirung ein. Selten gelingt es, ein Plasmodium aus zusammengetretenen Amöben zu erzielen.

Zur Beobachtung der Bewegung der Plasmodien lockt man am besten die überall auf Gerberlohe im Freien oder im Winter in den Gewächshäusern auftretenden grossen lebhaft gelben Plasmodien von Fuligo varians auf einen Objektträger durch ihre Eigenschaft, gegen den Wasserstrom zu schwimmen. In ein mit Wasser angefülltes Trinkglas taucht ein Streifen Fliesspapier, der über den Rand gelegt straff einem etwas breiteren Objektträger ansitzt, der in Sand ziemlich senkrecht aufgestellt ist. So wird ein kontinuirlicher Wasserstrom erzielt und in ihm kriecht in kleinsten Verzweigungen das Plasmodium, das auf einem Stück Lohe an die berieselte Seite des Objektträgers gebracht wurde, herauf, wenn das Ganze unter einer Glocke feucht gehalten und durch eine schwarze Hülle vor Licht geschützt ist (Strasburger). Das Studium der Fruchtkörperentwicklung geschieht an mit Flemming'scher Flüssigkeit fixirten und in Hämatoxylin oder Flemming'schen Dreifarben gefärbten Mikrotompräparaten (Jahn).

Der die Kohlhernie verursachende, parasitisch in Kohlwurzeln lebende Myxomycet lässt sich sehr leicht auf nach Flemming'schen Dreifarben gefärbten Mikrotomschnitten durch die in Flemming'scher Flüssigkeit fixirten inficirten Wurzeln studiren. In den gewaltig hypertrophirten Zellen liegen meist alle Entwicklungsstadien: einfache Amöben, Vermehrung, Zusammentreten zu Plasmodien und Sporulation. Die Zellkerne der Amöben sind leicht durch den grossen Nukleolus (Karyosoma) in der Mitte des schwach, aber doch färbbaren Chromatingerüstes zu erkennen und durch ihre geringe Grösse leicht von dem der Pflanzenzelle zu unterscheiden, während das Amöbenplasma sich oft nur sehr schwach gegen das Pflanzenplasma absetzt und nur durch seine Schwärzung in der Osmiumsäure der Fixirungsflüssigkeit zu identificiren ist (Nawaschin). Die Keimung der Sporen in Wasser gelingt immer sehr leicht (Woronin).

Litteratur: Strasburger (Gr. bot. Prakt., 3. Aufl., 1897), Jahn (Ber. deutsch. bot. Ges., Bd. 19, 1901), Nawaschin (Flora 1900), Woronin (Jahrb. wiss. Bot., 1879).

Magnus, Berlin.

Myxosporidien siehe Parasiten, thierische.

N.

Nachtblau, ein Diphenylnaphtylfarbstoff, und zwar das Chlorhydrat des Tolyltetraäthyltriamido-α-naphtyldiphenylkarbidrids (Ludwigshafen). Violettes Pulver, das in Wasser und Alkohol leicht löslich ist. In Schwefelsäure mit brauner Farbe löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure gelbbraun, mit Natronlauge entsteht eine Fällung.

Von du Plessis zur Färbung von Infusorien nach Sublimatfixation empfohlen.

Nachvergoldung siehe Goldmethoden.

Nagel siehe Haut.

Nährlösungen, vergl. Algen, Chlorophycaceen, Diatomeen, Hefe, Pflanzen, Pilze.

Nährstoffaufnahme bei Pflanzen. Der Ort der Nährstoffaufnahme wird durch etwa $^3/_4$stündigen Aufenthalt der Wurzeln in 0,003$^0/_0$iger Methylviolettlösung kenntlich gemacht (vergl. Lebendfärbung bei Pflanzen) oder durch Aufnahme von Nitraten (siehe diese).

Litteratur: Kny (Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. 16, 1898). *Magnus*, Berlin.

Naphtalingelb, Syn. Martiusgelb, Naphtolgelb, Manchestergelb. $C_{10}H_5(NO_2)_2 . ONa + H_2O$. Nitrofarbstoff, das Natronsalz des Dinitro-α-naphtols. Wird erhalten durch Behandlung von α-Naphtoldisulfosäure mit Salpetersäure. Gelbes Pulver, in Wasser schwer, in Alkohol leicht löslich.

Naphtalinroth, Syn. für Magdalaroth.

Naphtazarin S, Syn. für Alizarinschwarz S.

Naphtolblau, Oxazinfarbstoff, das Chlorzinkdoppelsalz des Dimethylnaphtophenazims, Syn. Neublau, Phenylenblau, Metaminblau, Meldolasblau. Violettes Pulver, das in Wasser und Alkohol leicht mit blauer, in Schwefelsäure mit dunkelgrüner Farbe löslich ist. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure hellblau, mit Natronlauge entsteht ein brauner Niederschlag

Naphtolgelb, Syn. für Naphtalingelb.

Naphtolorange, Azofarbstoff, das α-Naphtol-azo-benzol-p-sulfosaure Natrium $(SO_3Na)C_6H_4 . N : N . C_{10}H_6(OH)$, Syn. Tropäolin 000 Nr. 1. Orange 1 (Berlin). Rothbraunes Pulver, das in Wasser mit orangerother, in Schwefelsäure mit violettrother Farbe löslich ist. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge kirschroth, mit Salzsäure entsteht ein brauner Niederschlag.

Naphtorubin, Azofarbstoff, dem Echtroth nahe verwandt (Höchst, Elberfeld), Syn. Palatinroth. Graublaues Pulver, das in Wasser und Alkohol mit blaurother, in Schwefelsäure mit blauer Farbe löslich ist. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge gelb, mit Salzsäure entsteht ein brauner Niederschlag.

Naphtylaminbraun, Syn. für Echtbraun N (Ludwigshafen). Von KAISER zur Färbung von Rückenmarksschnitten empfohlen. Die Farblösung besteht aus einem Theil Naphtylaminbraun, 100 Theilen Alkohol und 200 Theilen Wasser. Färbung 1—2 Tage, Auswaschen in 96%igem Alkohol, Origanumöl, Balsam.

Litteratur: KAISER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889).

Naphtylenblau R, Syn. für Naphtolblau.

Narceïn, Azofarbstoff, der durch Behandlung von Orange II mit Natriumbisulfit entsteht (DURAND). Röthlichgelbes Pulver, das in Wasser und Schwefelsäure mit brauner Farbe löslich ist. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge mehr roth.

Narkose. Zur Narkose von Thieren für experimentell-histologische Zwecke benutzt man hauptsächlich Chloroforminhalationen, daneben aber auch Aether, Morphium, Chloralhydrat, Sparteïn und andere.

Im allgemeinen kann man sagen, dass die Aethorinhalation der des Chloroforms vorzuziehen ist, da besonders bei langdauernden Narkosen das letztere, wie die Untersuchungen von LEPPMANN, ROSENFELD und anderen zeigen, schwere Schädigungen in den verschiedensten Organen setzt. Am meisten empfiehlt sich eine Mischung von gleichen Theilen Chloroform und Aether. Als Maske benutzt man einen der Schnauzenform des Thieres angepassten Drahtkorb, der mit einem durchlässigen Stoff bezogen ist. Einen sehr praktischen Narkosekorb hat BIELKA VON KARLTREU konstruirt. Derselbe ist aus zwei Hälften zusammengesetzt, die sich jederzeit leicht öffnen lassen und so eine leichte Unterbrechung der Narkose oder das Hervorziehen der Zunge gestatten.

Die Chloroformäthermischung wird stetig auf den Korb aufgeträufelt und man fahre mit dem Narkotisiren so lange fort, bis das Thier reaktionslos geworden ist. Dann wird die Maske entfernt und nur nach Bedarf wieder angelegt.

Man erzielt bei den meisten Thieren, vor allem aber bei Hunden, eine sehr ruhige Narkose, wenn man ungefähr eine $1/2$—1 Stunde vor dem Versuch 3—5 Ccm. einer 1%igen Lösung von Morphium subkutan injicirt. LANGLOIS und MAURANGE empfehlen gleichzeitig mit der Morphiuminjektion noch eine Injektion von 3—5 Cgrm. schwefelsauren Sparteïns. Es soll dem beim Chloroform so leicht eintretenden Herzstillstand entgegenwirken.

Tritt während der Narkose Stillstand der Athmung ein, so muss künstliche Athmung eingeleitet werden, die man leicht durch rhythmische Kompression des Brustkorbs ausführen kann. Auch Faradisation des Vagus ist in manchen Fällen von gutem Erfolg.

Bei Hunden erreicht man einen ausserordentlichen tiefen und festen Schlaf, wenn man dem aufgebundenen und leicht chloroformirten Thier 2—5 Ccm. einer 2%igen Lösung von Morphium hydrochloricum in die Vena jugularis externa und gleich hinterher einige Kubikcentimeter Wasser injicirt. Dabei muss das Thier vom Diener festgehalten werden, da es zunächst in eine sehr starko Excitation geräth.

Katzen bringt man zunächst unter eine Glasglocke mit einem in Chloroform getränkten Schwamm. Man sorge für Luftzutritt und halte die

Glocke recht fest, da die Thiere in heftige Aufregung gerathen. Sobald das Thier umfällt, wird es herausgenommen und aufgebunden und dann mit reinem Chloroform weiter narkotisirt. Katzen vertragen dasselbe meist ungleich viel besser als Aether.

Für Kaninchen und Meerschweinchen ist dagegen der Aether dem Chloroform entschieden vorzuziehen. Ausserdem aber liefert für beide Thiere das Chloralhydrat wohl die beste Narkose. Man löse 50 Grm. Chloralhydrat in Wasser und fülle das ganze auf 100 auf. Von dieser Lösung injicirt man einem Meerschweinchen höchstens 1 Ccm., einem Kaninchen 1—2 Ccm. in die Bauchhöhle.

Für die meisten anderen Säugethiere, ebenso für Vögel, Reptilien und Amphibien wird Inhalation einer Chloroformäthermischung zum Ziele führen, indem man einen mit der Mischung getränkten Wattebausch in das das Thier enthaltende Glas bringt.

Wasserthiere narkotisirt man am besten dadurch, dass man dem Wasser etwas Chloroform zusetzt.

Für kleine Wasserthiere, vor allem für Larven vom Frosch, Triton, Salamander, kleine Fische etc. empfiehlt sich am meisten das salzsaure Cocaïn. Man bringt die Thiere in eine möglichst geringe Menge Wasser und setzt demselben von einer 5%igen Lösung einige Tropfen zu. Ist nach 5—10 Minuten noch keine Narkose eingetreten, so kann man noch einige Tropfen zusetzen. Sobald die Thiere unbeweglich sind, überträgt man sie in frisches, reines Wasser. Für den gleichen Zweck hat Remak Bittermandelwasser, Randolph Acetonchloroform empfohlen. Auch Einleiten von Kohlensäure ins Wasser vermag nach Uexküll kleine Fische zu lähmen.

Curare wird ausser zu speciell physiologischen Zwecken nur wenig benutzt. Man stellt sich eine 1%ige Lösung her und injicirt beim Frosch 2—3 Tropfen in den Rückenlymphsack, bei Kaninchen und Hund einen bis mehrere Kubikcentimeter in die Vena jugularis. Im letzteren Falle muss natürlich künstliche Athmung eingeleitet werden.

Ueber die Narkotisirung von Wirbellosen siehe unter den betreffenden Klassen.

Litteratur: Leppmann (Mittheilungen aus den Grenzgebieten der Medicin u. Chirurgie, Bd. 4, 1898), Rosenfeld (Arch. exp. Path. Pharm., Bd. 37, 1894), Bielka von Karltreu (Pflüger's Arch., Bd. 80, 1900), Remak (Arch. Anat, 1852), Randolph (Zool. Anz., Bd. 23, 1900), von Uexküll (Mit. zool. Stat. Neapel, Bd. 12, 1896).

Natriumacetat, essigsaures Natron, Natrium aceticum, CH_3—$CO.ONa + 3 H_2O$, wird im grossen durch Sättigen des Holzessigs mit Soda erhalten. Farblose monokline Krystalle, die bei 75° schmelzen, bei 120° ihr Krystallwasser abgeben und zu einem weissen Pulver zerfallen. Es löst löst sich bei 15° zu 100% in Wasser, zu 4% in 90%igem Alkohol. Die wässerige Lösung reagirt ganz schwach alkalisch. Löst man Natriumacetat in Eisessig und dampft rasch ein, so entsteht ein saures Natriumacetat.

In der Mikrotechnik wird das Natriumacetat nur sehr selten benutzt, meist an Stelle von Kaliumacetat.

Natriumbikarbonat, doppeltkohlensaures Natron, Natrium bicarbonicum, $NaHCO_3$, wird durch Einwirkung von Kohlensäureanhydrit auf krystallisirte Soda hergestellt. Kleine, farblose monokline Krystalle, die sich bei 20° zu 11% in Wasser lösen, wobei das Salz einen Theil seiner Kohlensäure verliert, bei 70° zersetzt sich die Lösung unter weiterem Entweichen von Kohlensäureanhydrit und Bildung von Natriumsesquikarbonat. Die wässerige Lösung reagirt ganz schwach alkalisch, beim Erwärmen wird diese Reaktion deutlicher durch die Bildung des Sesquikarbonats. Das käuf-

liche Salz ist nicht selten mit neutralem Karbonat verunreinigt und dadurch von stärkerer alkalischer Reaktion.

Natriumbikarbonat wird als ganz schwaches Alkali manchmal zum Bläuen von Hämatoxylinpräparaten benutzt.

Natriumborat siehe Borax.

Natriumbisulfit, saures schwefeligsaures Natrium, $NaHSO_3$, weisse, krystallinische, in Wasser leicht lösliche Masse. Sie wird erhalten durch Einleiten von Schwefeligsäureanhydrid in koncentrirte wässerige Sodalösung, bis sie stark nach schwefeliger Säure riecht. Die wässerige Lösung zersetzt sich sehr leicht unter Abspaltung von Schwefeligsäureanhydrid.

Das Natriumbisulfit wirkt in wässeriger Lösung noch stärker reducirend als das neutrale Salz, besonders wenn man der Lösung etwas Mineralsäure zusetzt. Mönckeberg und Bethe benutzen eine 2%ige wässerige Lösung mit Zusatz von 2—4 Tropfen koncentrirter Salzsäure auf 10 Ccm. zur Reduktion von Osmiumpräparaten. (Näheres siehe Nervenfasern und -zellen, Fibrillen derselben.)

Litteratur: Mönckeberg und Bethe (Arch. mikr. Anat., Bd. 54, 1899).

Natriumchlorid siehe Kochsalz.

Natriumchromat siehe Chromsaure Salze.

Natriumhydroxyd, Natrium causticum, Aetznatron, Natriumhydrat, $NaOH$, wird in ähnlicher Weise wie das Kaliumhydroxyd dargestellt und hat auch dieselben Eigenschaften. Sein specifisches Gewicht beträgt 2,13. Es ist bei 18^0 zu $60{,}53\%$, bei 32^0 zu $72{,}91\%$ in Wasser löslich, in Alkohol ist es ebenfalls leicht löslich. Die Normalnatronlauge enthält im Liter Wasser 40 Grm. Natriumhydroxyd, der Liquor Natrii caustici der Pharmakopoe 15 Grm. in 100 Ccm. Wasser.

Die Anwendung des Aetznatrons in der Mikrotechnik ist die gleiche wie die des Aetzkali.

Natriumhypochlorit, der Hauptbestandtheil des Eau de Labarraque (siehe dort).

Natriumhyposulfit, Natriumthiosulfat, Natrium subsulfurosum, unterschwefeligsaures Natron, $Na_2S_2O_3 + 5H_2O$, wird erhalten durch Kochen von Natriumsulfit mit Schwefel. Farblose grosse monokline Prismen, die sich bei $10{,}5^0$ zu 169% in Wasser mit ganz schwach alkalischer Reaktion lösen. Bei 100^0 schmilzt das Salz, an der Luft verwittert es. Freies Chlor wird von der wässerigen Lösung reichlich unter Bildung von Chlorwasserstoffsäure gebunden. Ebenso wie die Halogene selbst sind auch die Halogenverbindungen des Silbers in Natriumhyposulfit unter Bildung von Silbernatriumhyposulfit und Chlornatrium löslich.

Auf der letzteren Eigenschaft beruht die Verwendung des Salzes in der Photographie zur Lösung des unzersetzten Silbersalzes (Fixiren). Auch in der Mikrotechnik macht man davon Gebrauch bei der Vergoldung und Versilberung (siehe Goldchlorid und Silberimprägnation).

Natriumjodat, $NaJO_3$, farblose Krystalle, die sich zu 7% in Wasser lösen. Beim Erhitzen oder Behandeln mit Reduktionsmitteln giebt es unter Bildung von Jodnatrium seinen Sauerstoff ab.

Wegen seines Sauerstoffreichthums ist es von Busch als Zusatz (1%) zu Osmiumsäurelösungen empfohlen worden. Es verhindert ihr Verderben, verzögert die Reduktion in den Geweben und lässt die Lösung tiefer eindringen.

Litteratur: Busch (Neurol. Centr., Jahrg. 17, 1898).

Natriumkarbonat, neutrales kohlensaures Natron, Natrium carbonicum, Soda, $Na_2CO_3 + 10H_2O$, grosse farblose Prismen, die an der Luft verwittern, dabei den grössten Theil ihres Krystallwassers verlieren und zu einem weissen Pulver zerfallen, dem Natrium carbonicum siccum der Pharmakopoe. Es löst sich mit stark alkalischer Reaktion bei 15° zu 63,2%, bei 20° zu 92,8% in Wasser.

Als starkes Alkali findet es in der Mikrotechnik mannigfache Anwendung zum Neutralisiren, zum Herstellen alkalischer Farblösungen und zu ähnlichen Zwecken. Auch als Macerationsmittel in 10%iger schwach alkoholischer Lösung empfohlen.

Natriumkarminat siehe Karminsäure und Injektion, physiologische.

Natriummolybdat, $Na_2MoO_4 + 2H_2O$, entsteht bei Lösung von Molybdänsäureanhydrit in Sodalösung und wird an Stelle des Ammoniummolybdats benutzt.

Natriumnitrat, Natrium nitricum, Natronsalpeter, Chilisalpeter, $NaNO_3$, findet sich in grossen Massen in Südamerika und stellt in reinem Zustand farblose Würfel dar, die bei 20° zu 89,5% in Wasser und zu ungefähr 1% in 93%igem Alkohol löslich sind. In seinen Eigenschaften ist es dem Kaliumnitrat sehr ähnlich und findet auch dieselbe Verwendung wie jenes.

Natriumnitrit, Natrium nitrosum, $NaNO_2$, entsteht beim Erhitzen von Natriumnitrat mit metallischem Blei und bildet leicht zerfliessliche, farblose Krystalle.

Natriumphosphat. Von den drei verschiedenen Phosphaten des Natriums hat nur das zweibasische Natriumphosphat, Natrium phosphoricum, $Na_2HPO_4 + 12H_2O$, hier Interesse. Es entsteht durch Neutralisation von Phosphorsäure mittels Natriumkarbonat und bildet grosse, farblose Prismen, die an der Luft leicht verwittern und zu 16% in Wasser von 15° löslich sind. In Alkohol sind sie unlöslich.

Natriumsalicylat, Natrium salicylicum, salicylsaures Natron, C_6H_4—OH—COONa, bildet weisse, süss-salzig schmeckende Schüppchen, die in 0,9 Theilen Wasser und 6 Theilen Weingeist löslich sind. Die wässerige Lösung wird auch in starker Verdünnung durch Eisenchlorid blauviolett gefärbt.

Während das salicylsaure Natron in der praktischen Medicin vielfache Verwendung findet, ist dies in der mikroskopischen Technik nur in beschränktem Umfange der Fall und beruht dann im wesentlichen auf den antiseptischen Eigenschaften des Salzes. So setzt Mayer zum Eiweissglycerin Natriumsalicylat hinzu (auf je 50 Ccm. Eiweiss und Glycerin 1 Grm. des Salzes); derselbe Autor benutzt es als antiseptischen Zusatz bei der Bereitung des Karmalauns. Ebenso hat es als Zusatz zu Untersuchungsmedien Verwendung gefunden, und zwar von Apáthy, der in 50 Ccm. Wasser je 25 Grm. Gummi und Zucker und ½ Grm. des Salzes löst, sowie von Garbini, der das Blut von Muscheln mit einem Zusatz von salicylsaurem Natron nimmt.

Nach Lenz besitzt eine Lösung von gleichen Gewichtstheilen Natriumsalicylat und Wasser ein spec. Gew. von 1,2315 bei 17° C und ein Brechungsvermögen = 1,4497. Lenz benutzt diese Lösung als Aufhellungsmittel für pflanzliche Gegenstände; sie wirkt in kürzester Zeit quellend auf Stärkemehl und hat den besonderen Vorzug, sich mit Phenolen, besonders mit dem zu 80% aus Eugenol bestehenden Nelkenöl zu mischen.

Litteratur: Behrens (Tabellen 1898), Garbini (Manuele Techn., 1899), Lenz (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894). *Mosse*, Berlin.

Natriumsulfat, Natrium sulfuricum, Glaubersalz, $Na_2SO_4 + 10H_2O$, findet sich weit verbreitet in der Natur und ist ein konstanter Bestandtheil des Meerwassers. Künstlich wird es durch Lösen von Kochsalz in Schwefelsäure erhalten und stellt grosse, farblose monokline Prismen dar, welche an der Luft ihr Krystallwasser abgeben und zu einem weissen Pulver zerfallen, Natrium sulfuricum siccum. Das Salz löst sich bei 15° zu 33,3%, bei 18° zu 48%, das Optimum der Löslichkeit liegt bei 33° (322,6%). Die Lösung soll vollkommen neutral reagiren. In Alkohol ist Glaubersalz unlöslich.

Natriumsulfat wird in der mikroskopischen Technik als Neutralsalz den Lösungen mancher Fixationsmittel zugesetzt, wie chromsauren Salzen, Sublimat und anderen, auch zur Herstellung von indifferenten Zusatzflüssigkeiten findet es Verwendung.

Natriumsulfit, Natrium sulfurosum, neutrales schwefligsaures Natron, $Na_2SO_3 + 7H_2O$, entsteht durch Calciniren eines Gemenges von Soda und Schwefel und bildet ein weisses krystallinisches Pulver, das zu ungefähr 33% in Wasser von 20° löslich ist. An der Luft geht das Salz allmählich in Natriumsulfat über.

Die Verwendung des Natriumsulfits ist die gleiche wie die des Kaliumsulfits; die durch Einwirkung von Säuren aus ihm freiwerdende schweflige Säure dient als kräftiges Reduktionsmittel. In diesem Sinne dient es bei der Gold- und Silberimprägnation bei der WEIGERT'schen Neurogliamethode und anderen.

Natronseife. Als Natronseife bezeichnet man die Natronsalze der verschiedenen Fettsäuren, die neben Glycerin bei der Einwirkung von heisser Natronlauge auf Fette entstehen. Von letzteren verwendet man meistens Talg oder Schweinefett, seltener auch Olivenöl (venetianische Seife), Butter (Butterseife), Provenceröl (Sapo medicatus) etc. Die Natronseife bildet eine feste, weisse Masse zum Unterschiede von der Kaliseife (Schmierseife). Sie soll neutrale Reaktion besitzen und löst sich leicht in warmem Wasser, wobei sich unter Bildung von saurem fettsaurem Natron freies Alkali abspaltet. Leicht löslich ist die Natronseife ferner in Alkohol, weniger in Aether und Benzol.

Die Natronseife ist von manchen Seiten als Einbettungsmittel für mikroskopische Präparate empfohlen worden. (Näheres darüber siehe Glycerinseife und Paraffin.)

Nebenkern. Zur Demonstration des von GAULE und NUSSBAUM ziemlich gleichzeitig entdeckten Nebenkerns eignet sich vor allem das Pankreas der Amphibien und Reptilien, weniger das gleiche Organ der Säugethiere. Von anderen Organen empfiehlt PLATNER noch die MALPIGHI'schen Gefässe der Insekten und die Zwitterdrüse von Helix, NUSSBAUM die Oesophagealdrüsen des Frosches, H. RABL und KARPOW die verschiedensten Gewebszellen von Salamandra- und Axolotllarven (Bindegewebszellen, Lungenepithel, Darmmuskeln, Leber, Niere und Epidermis). Zur Fixation eignet sich FLEMMING'sche Flüssigkeit (PLATNER), HERMANN'sche Flüssigkeit (KARPOW), Sublimat (KARPOW), Pikrinsublimat (RABL), koncentrirte wässerige Sublimatlösung mit $^1/_2$—1% Osmiumsäure (OGATA).

Von den verschiedenen Färbungen leistet besonders die HEIDENHAIN'sche Chromhämatoxylinmethode in der Modifikation von APÁTHY gute Dienste. PLATNER empfiehlt Kernschwarz. OGATA hat eine specielle Methode für die Färbung des Nebenkerns ausgearbeitet. Er färbt die Schnitte nacheinander in einem dünnen Hämatoxylin, Auswaschen in $^1/_2$%iger wässeriger Alaunlösung, dann 1‰iges wässeriges Nigrosin, Auswaschen in Wasser, dann $^1/_2$% Eosin in 30%igem Alkohol, Auswaschen in Alkohol, schliesslich $^1/_2$%

Safranin in 30%igem Alkohol und Auswaschen in Alkohol. Der Nebenkern färbt sich dann intensiv roth durch Safranin.

Litteratur: Gaule (Centr. med. Wiss., 1891), Nussbaum (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1882), Platner (ebenda, Bd. 33, 1899), Karpow (Russisches Archiv für Pathologie, klinische Medicin und Bakteriologie, 1896), Ogata (Arch. Physiol., 1883), Eberth (Fort. Med., Bd. 8, 1890), Steinhaus (Beitr. path. Anat., Bd. 7, 1890), Ver Eecke (Arch. Biol., 1893), Mouret (Journ. de l'anat. Phys., Jahrg. 31, 1895), Laguesse (ebenda, Jahrg. 30, 1894).

Nebenniere. Die Darstellung der beiden Substanzen der Nebenniere, der Rinde und des Markes, in einer für feinere histiologische Untersuchungen gleichermassen brauchbaren Form an einem und demselben Präparat scheitert wesentlich an den Schwierigkeiten der Fixation. Für Uebersichtsbilder des gröberen Baues eignen sich die Sublimatgemische, Pikrinessigsublimat, Zenker's Flüssigkeit und besonders das Carnoygemisch mit nachfolgender Schnittfärbung nach van Gieson. Als Objekte für Kurszwecke empfieht sich die Nebenniere des Menschen und der höheren Affen wenig; besser dienen dazu die niederen Affen, die Karnivoren (Hund, Katze) und Ungulaten (Pferd); Demonstrationspräparate für den Bau bei den übrigen Wirbelthieren erhält man am bequemsten vom Huhn, von der Eidechse, von Salamandra oder Triton, vom Aal oder Hecht, von Petromyzon; für die Selachier eignen sich am besten Querschnitte durch junge, etwa 9—15 Cm. lange Haifische von der Gegend vor der Kloake, wo man auf dem gleichen Schnitte Interrenalkörper und Suprarenalkörper darstellen kann.

Die Untersuchung des frischen Objektes, eines Doppelmesserschnittes, ist bedeutsam geworden durch den von Kaiserling und Orgler geführten Nachweis anisotroper Körnchen in den Zellen der Rinde, die sie Myelin nennen. Die Methode ist die übliche der Beobachtung im polarisirten Licht. Nach den Angaben beider sind diese Körnchen unlöslich in Wasser, Natronlauge, Essigsäure, koncentrirter Schwefelsäure, schwer löslich in Alkohol, leicht in Chloroform und Aether. Sie färben sich mit Osmiumsäure nur leicht grau, bei längerer Behandlung schwarz, entfärben sich in osmirtem Zustande in Xylol, Chloroform und Bergamottöl. Bei Kindern sind sie fast ausschliesslich vorhanden, bei älteren Individuen finden sich noch andere, Fetttropfen ähnliche isotrope Gebilde und endlich solche, die nur am Rande Doppelbrechung zeigen. Das Verhalten der Rindenzellenkörnchen gegenüber der Osmiumsäure scheint nicht bei allen Thieren gleichmässig zu sein: nach Mitsukuri färben sie sich am Gefrierschnitt beim Kaninchen und bei der Ratte gar nicht; es dürfte bei den schwankenden Litteraturangaben die Verwechslung primärer und sekundärer Schwärzung mitsprechen (siehe Osmiumsäure). Sie schwärzen sich nach Plecnik beim Menschen nicht primär mit Osmiumsäure.

Bei der Fixation gehen diese Körnchen der Rindenzellen in der Regel sämmtlich verloren, nur das Negativ, das Maschenwerk, das sie im Leben einhüllte, ist erhalten und zeigt ihre Form und Vertheilung: diese Bilder — spongiocytes von Guieysse — ergeben die Sublimat- und Carnoypräparate am schönsten. Bei der Anwendung von Osmiumgemischen allein findet man, vermuthlich aber nur zum Theil, diese Körnchen in tiefschwarzer Farbe im Präparat: Flemming's, Hermann's, Altmann's und Johnson's Gemisch sind gleichmässig brauchbar: sie sollen sich an diesen Präparaten in Chloroform, Xylol und Bergamottöl entfärben; mag dieses auch bei einzelnen der Fall sein, so kann man aufgeklebte Schnitte von osmirten Objekten, die durch Chloroform eingebettet waren, wochenlang in Chloroform stehen lassen, ohne dass eine wahrnehmbare Verminderung der schwarzen Körnchen eintritt; sie sind also jedenfalls nur zum kleinsten Theil löslich. Häufig bemerkt man dagegen noch ein Ausziehen schwarzer Wolken im Xylolbalsam (siehe Osmiumsäure). Plecnik wendet Petroläther als Intermedium an.

Braun findet, dass bei den Reptilien diese Körnchen durch Chromsäure verändert, gelöst würden: dieses Verhalten, sowie das gegen Osmiumsäure und die Anisotropie unterscheidet diese Körnchen scharf von Fett, dem sie im frischen Bilde ähneln. Plecnik findet, dass sich Nebennieren»fett« nach der Lewinsohn'schen Fettfärbemethode darstellen lässt, nicht aber subepicardiales Fett und Phosphornierenfett.

Die Fixation der Marksubstanz ist die bei weitem schwierigere Aufgabe: das Objekt muss ganz lebensfrisch sein, da das Nebennierenmark mit der am schnellsten kadaveröse Veränderungen zeigende Theil ist; zweitens

muss unbedingt jede unsanfte Berührung des Organs vermieden werden, da eine jede solche unter Umständen das Zerreissen der dünnen nur aus einer einfachen Endothellage bestehenden Venenwandungen zur Folge hat, durch deren Risse Parenchymtheile in die Venensinus hineingelangen. Für die Fixation des Markes haben die Chromsäure- und die Chromsalze, sowie die Gemische beider besondere Bedeutung durch die mit ihnen zu erzielende Phaeochromreaktion der Markzellen erlangt (s. Chromsäure und Chromate, pag. 134). Wiesel hat jüngst eine Fixation in 10 Theilen 5%igen Kaliumbichromats, 20 Theilen 10%igen Formaldehyds, 20 Theilen Aquae destillatae angegeben, in der kleine Stücke 1—4 Tage verweilen, um dann auf 1—2 Tage in reine 5%ige Kaliumbichromatlösung übertragen zu werden. Nach gründlichem Auswaschen folgt die Ueberführung in die Alkoholreihe. Diese Methode ergiebt bei nachfolgender Färbung mit Wasserblau oder Toluidinblau (10%ige wässerig Lösung 20 Minuten, Leitungswasser 5 Minuten, 1%ige wässerige Safraninlösung 20 Minuten, Alkohol 95% und 100% bis die blaue Farbe wieder erscheint, Karbolxylol, Xylol, Balsam) eine deutliche Grünfärbung der phaeochromen Zellen, während die Kerne roth und die Zellkörper aller nicht chromaffinen Elemente hellblau erscheinen. C. K. Hoffmann findet den Zellenkörper der Markzellen bei Urodelen mit 3%iger Kaliumbichromatlösung oder Müller's Flüssigkeit braun, mit 0,5%iger Chromsäure grünlichbraun oder dunkelgrün gefärbt; die Zenker'sche Lösung ergiebt dagegen die Phaeochromreaktion nicht, was ich für die Säugethiere ebenfalls beobachtet habe; ebensowenig nach Inaba die Mischung von 8 Theilen Pikrinschwefelsäure und 1 Theil Chromsäure bei $1^1/_4$stundenlanger Einwirkung.

Infolge der Verunstaltungen der Zellen bei der Anwendung der nur mässig gut fixirenden Chromsalzgemische sind die Bilder histiologisch vorsichtig zu beurtheilen; dies gilt zumal für die oft behauptete Multipolarität der Markzellen. Die chrom- und osmiumhaltigen Fixationsmittel sind indessen doch die einzigen Mittel, den Zelleninhalt der Markzellen überhaupt zu fixiren: bei allen übrigen Methoden wird der Zellenkörper bis auf spärliche Reste total aufgelöst, und er gewinnt ein gerinnselig-maschiges Aussehen. Auch mit jenen Fixationen gelingt es nur ausnahmsweise, nach meiner Erfahrung zuweilen bei jungen Mäusen oder Ratten am besten, sogar hier unter Umständen auch mit Sublimat, die Zellengrenzen darzustellen, die sonst regelmässig verschwunden sind (vergl. u. a. Mitsukuri).

Bei der Fixation von Nebennieren in wässerigen, besonders in sublimathaltigen Flüssigkeiten tritt alsbald eine schon lange bekannte rosarothe Färbung der Flüssigkeit ein. Für manche Zwecke empfiehlt es sich, dem ganzen Thiere die Injektionsflüssigkeit zu injiciren (Drüner), z. B. für die Untersuchung des sympathischen Nebennierenantheils der Urodelen.

Bei der Färbung verhalten sich die Zellenkörper der Rinden- und der Markzellen sehr auffallend verschieden: jene tingiren sich sehr intensiv mit den sogenannten Plasmafarbstoffen, wie Eosin, Pikrinsäure, Erythrosin, Bleu de Lyon u. s. w., diese dagegen ebenso intensiv, fast so stark wie Kerne, mit Kernfarbstoffen, Safranin (Giacomini), vor allem aber, was schon lange bekannt ist, mit Hämatoxylin: eine Reaktion, die sich durch die ganze Wirbelthierreihe verfolgen lässt. Man erhält daher mit der van Gieson'schen Färbemethode für die meisten histiologischen Zwecke geeignete Resultate. Hultgren und Andersson haben mit Chromsäurefixation und Eisenalaunhämatoxylinfärbung in der innersten Rindenschicht und im Mark Körnelungen der verschiedensten Art dargestellt, deren Menge sie bei Regenerationsversuchen theilweise exstirpirter Nebennieren zunehmen sahen, eine Erscheinung, die sie im Sinne gesteigerter Sekretionsleistung deuten. Flesch und neuerdings Srdínko haben auf die differente Färbung des Markes und der Rinde, Flesch auf die Sonderung der Zellenarten an der Rindenmarkgrenze, bei der Doppelfärbung mit Karmin und Indigokarmin hingewiesen: aus dem angeführten Grunde erscheint die Rinde blau, das Mark roth. Die Zelleneinschlüsse der Rinde färben sich, ähnlich wie Fett mit Alkanna (Rabl), mit Sudan III und Scharlach R roth (Kaiserling und Orgler), nach Lubarsch färben sie sich nach Russel und nach Weigert. Ausserdem

lassen sich ALTMANN's fuchsinophile Granula nach PLECNIK bei menschlichen Embryonen leicht nachweisen. ALEXANDER findet die Rindenschicht der Nebenniere durch Jodlösung oder Jodkali roth gefärbt, und zwar ist die Färbung beständig gegenüber Schwefelsäure und ist nicht auf Glykogen zurückzuführen, da selbst längeres Liegen der Organe in Wasser ihr Eingehen nicht verhindert. WIESEL ist es gelungen, mittels der von UNNA für die Haut verwandten Färbemethode mit polychromem Methylenblau und Differenzirung in 33%iger Tanninlösung in der inneren Schicht der Zona fasciculata und in der Zona reticularis auch am frischen Präparat zwei Zellenarten zu sondern: er findet in regelloser Vertheilung neben kleineren Zellen mit blauem Zellkörper und blauem Kern grössere Zellen mit hellblauem Körper und rothem Kern. Viele der blau gefärbten Zellen färben sich auch mit Schleimfarben und mit HEIDENHAIN's Eisenhämatoxylin. Nach WIESEL deuten diese Verschiedenheiten auf die Existenz eines sauren und eines basischen Sekretes. PLECNIK weist im Mark nach der Pubertät Körner nach, die sich mit Sudan im ganzen roth färben, mit Osmiumsäure nur ringförmig schwärzen.

Die Osmium- und Chromsalzfixirungen geben als solche schon die bekannten Farbresultate: GUARNIERI und MAGINI finden ausser diesen den Markzellkörper zu drei Viertheilen braun gefärbt bei FLEMMING's Fixation, während die Spitze um den Kern herum ungefärbt bleibt. Es ist zu erwähnen, dass der Eintritt der Chromfärbung an anderweitig fixirten Präparaten nicht mehr zu erzielen ist; schon 15 Minuten lange Einwirkung von Alkohol vereitelt die Reaktion; auch an nicht mehr ganz frischen Objekten bleibt sie zuweilen aus.

Für ihre speciellen Zwecke haben sich die Autoren meist besondere Fixations- und Färbemethoden ausgewählt, von denen einige angeführt seien:

Säugethiere: GUIEYSSE benutzt für Meerschweinchen vorzugsweise ZENKER's Lösung mit 3% Essigsäure 3—4 Stunden lang, dann 12 Stunden lang Sublimat; er färbt mit dem besten Resultate mit Magentaroth, Pikrinsäure, Indigokarmin und entfärbt mit Nelkenöl; PFAUNDLER findet neben anderen Mitteln den absoluten Alkohol sehr brauchbar, CARLIER fixirt die Nebenniere des Igels mit Pikrin-Tannin-Sublimat nach MANN. (Absoluter Alkohol 100 Ccm., Pikrinsäure 4 Grm., Sublimat 15 Grm., Acidum tannicum 6—8 Grm.)

Vögel: RABL findet bei Fixation mit 1%iger Chromsäure in den Strängen der Nebenniere unregelmässig vertheilt blasige Zellen, die bei anderen Fixationen fehlen und sich bei Färbung mit Essigsäurehämatoxylin nach KULTSCHITZKY und darauf folgender Behandlung mit Ferridcyankalium dunkelschwarzblau färben, während die übrigen Zellen blassblau werden.

Reptilien: BRAUN fixirt mit Chromsäure, FLEMMING's Lösung, $^1/_2$—2%igem Kaliumbichromat, Alkohol und färbt mit Karmin oder dem von ihm angegebenen Pikrokarmin im Stück.

Amphibien: STILLING fixirt Froschnebennieren mit HERMANN'schem und ZENKER'schem Gemisch, mit 10%igem Formol mit Zusatz von 2,5—3% Kaliumbichromat, färbt mit Hämatoxylin-Eosin, ZENKER'sche Präparate mit Triacid nach EHRLICH oder mit BIONDI'scher Lösung. Er findet »Sommerzellen« in der Froschnebenniere, die sich mit Eosin intensiv roth, mit den Dreifarbgemischen rothviolett färben; SRDÍNKO fixirt mit CARNOY's Lösung 3 Stunden lang, mit MÜLLER'scher Flüssigkeit 4—7 Tage, mit FLEMMING'schem Gemisch 2—6 Stunden, färbt mit Hämatoxylin (5%ige Lösung 100 Theile + 1%iger Lösung von Kaliumpermanganat 5 Theile) 2 Stunden, Differenzirung mit Eisenalaun (1%ige Lösung) oder nach der MERKEL'schen Doppelmethode; C. K. HOFFMANN findet für die Rindenzellen der Urodelen $^1/_2$%ige Chromsäure von allen Fixationsmitteln am besten.

Teleostier: PETTIT benutzt für die »Nebenniere« des Aals starkes FLEMMING'sches Gemisch, LINDSAY'sche und ZENKER'sche Flüssigkeit; färbt vorzugsweise mit Safranin nach HENNEGUY, mit den EHRLICH-BIONDI'schen Gemischen und nach BENDA; DIAMARE benutzt für die STANNIUS'schen Körper 1%ige Osmiumsäure.

Selachier: DIAMARE verwendet für den Interrenalkörper Alkohol-Eisessig-Sublimat nach MINGAZZINI und Pikrinsublimat (Pikrinsäure, gesättigte alkoholische Lösung 1 Theil, gesättigte wässerige Sublimatlösung 1 Theil). Für die Corpora suprarenalia der Selachier wie für die phaeochromen Zellen des Sympathicus (Zellnester — SIGMUND MAYER) und die Nebenkörper des Sympathicus (ZUCKERKANDL) gelten dieselben Regeln wie für die Technik der Marksubstanz der Nebenniere.

Das Studium des elastischen Gewebes, der glatten Muskulatur, der Pigmentverhältnisse, der Kerntheilungen u. s. w. geschieht nach den üblichen Methoden.

Von den nervösen Bestandtheilen der Nebenniere bedürfen die Nervenzellen keines besonderen Verfahrens: es ist indessen auf die un-

gemein grosse Verschiedenheit ihrer Zahl bei den einzelnen Thieren, besonders bei den Säugethieren hinzuweisen: bei der Ratte und Maus sind sie ungemein spärlich, beim Meerschweinchen bilden sie nach Dogiel förmliche Ganglien, bei den Karnivoren, Hund und Katze sind sie ebenfalls selten, bei den höheren Affen und beim Menschen in grosser Anzahl vorhanden. Bei den Thieren, deren Nebenniere nur wenige Nervenzellen aufweist, findet man in der Regel entweder unmittelbar der Kapsel anliegend oder in der etwas weiteren Umgebung des Organs beträchtliche sympathische Ganglien. Dogiel findet kleine und grosse multipolare Zellen mit pericellulären Netzen und bipolare Zellen mittels der Golgimethode; die grossen multipolaren Zellen färben sich mit Methylenblau schwächer als die kleinen. Für den Nachweis der Nervenfasern kommen die Goldmethoden, die Golgimethoden und die Methylenblaufärbungen in Betracht. Mit Goldchlorid konnten weder Guarnieri und Magini, noch Fusari positive Resultate erzielen. S. Mayer hat auf die besonders intensive Färbung der phaeochromen Sympathicuselemente bei den Amphibien mittels einer 0,1%igen Chlorgoldlösung und nachfolgender Behandlung mit schwach essigsäurehaltigem Wasser hingewiesen, die man bei derartigen Versuchen zuweilen zu Gesicht bekommt.

Die Methylenblaumethode haben Dogiel und Fusari benutzt: Fusari gab sie nur partielle Resultate; nach meiner eigenen Erfahrung mit intraperitonealer, intravenöser und subkutaner Methylenblauinjektion beim lebenden Thier sind die Ergebnisse wenig ermuthigend, selbst bei solchen Thieren, die an anderen Körperstellen brauchbare Präparate des peripherischen Nervenverlaufs ergeben haben. Es färben sich dagegen, wie ich regelmässig beobachtet habe, stets eine Anzahl von Zellen der Rindenschicht in unregelmässiger Vertheilung tiefblau, während die anderen, und zwar die bei weitem grössere Menge, ungefärbt bleiben. Die meisten Schilderungen beziehen sich auf Golgipräparate: Fusari hat nach solchen von der Säugernebenniere, Giacomini von der der Vögel eine grosse Anzahl von Einzelheiten des Nervenverlaufs beschrieben, Fusari auch in der Rinde, der die meisten Untersucher bis auf Nagel die Nerven abgesprochen hatten, und zwar mit der schnellen Methode Golgi's; die langsame stellt auch nach Fusari Gefässe, Bindegewebe, Muskelzellen und die geflügelten Figuren dar, die schon Guarnieri und Magini aufgefallen waren.

Dogiel erhielt von der Nebenniere des Hundes, des Meerschweinchens, der Ratte die besten Resultate, und zwar mit der doppelten Methode Ramon y Cajal's in 6—8 Tagen. In der Zona fasciculata sei die Färbung am schwierigsten; er beschreibt Nervenfasernetze, die die Zellengruppen und die einzelnen Zellen, zumal des Markes, umspinnen.

Die Darstellung der Gefässe der Nebenniere ist eine der schwierigsten Aufgaben der Injektionstechnik. Arnold hat solche zuerst im grösseren Massstabe beschrieben; nach Pfaundler erzielt man die besten Resultate bei venöser Injektion; sehr gute Abbildungen giebt Dostoiewski von injicirten Präparaten. Den Klagen über Nichtgelingen der Injektion begegnet man nicht selten z. B. bei Guarnieri und Magini. (Siehe Injektion.) Specielle sehr ausführliche Vorschriften über die Ausführung der Nebenniereninjektion beim Hunde giebt Flint:

An dem durch Verblutenlassen aus den Carotiden getödteten Thier wird an der Aorta oberhalb des Zwerchfells, für die venöse Injektion entweder von der Lumbalvene nach Unterbindung des centralen Endes kurz vor der Ausmündung in die Vena cava oder ebenfalls von der Aorta aus mit einer flüssigen Masse injicirt, die die Kapillaren passirt. Die ausgezeichnetsten Resultate hat Flint bei Einzelinjektion mittels Zinnobers erhalten. Natürliche Injektionen erhielt er durch Unterbindung der Lumbalvene am medialen und lateralen Rande des Organes 10—15 Minuten lang. Korrosionspräparate hat er ausser mit Wood's Metall und Maceration in Kalilauge durch Injektion mit Preussischblau-Celloidin und Behandlung mit 20%iger Salzsäure und Pepsinchlorwasserstoffsäure hergestellt. Die Kapselplexus hat er an gehärteten und injicirten Drüsen dargestellt, die mit dem Rasirmesser halbirt waren und

an denen durch Auskratzen das Parenchym bis auf die fibröse Kapsel entfernt war; diese wurde aufgehellt und in eine Glaszelle eingeschlossen, Embryonen von Säugethieren (Schwein) von mehr als 10 Cm. Länge wurden ebenso injieirt wie die grösseren Thiere, bei kleineren brachte er die Kanüle durch das linke Herz direkt in die Aorta, noch kleinere injicirte er von den Nabelgefässen aus mittels einer langen zu einer spitzen Kanüle ausgezogenen Pipette.

Die Untersuchung des Inhalts der Blutgefässe, sei es im Blut der Nebennierenvene, sei es auf dem Schnittpräparat des Gewebes selbst, ist bei der Suche nach der »wirksamen Substanz« und nach den Sekreten oder Exkreten der Nebenniere häufg zu Rathe gezogen worden, besonders auch nach experimentellen Eingriffen. Sehr früh hat schon GOTTSCHAU die Aufmerksamkeit auf diesen Punkt gelenkt. MANASSE hat nach Chromsalzfixation (MÜLLER's Flüssigkeit, 2%iges Kaliumbichomat) in den Markräumen und auch in arteriellen Gefässen glasige braune Massen gefunden; Zapfen solcher Substanz ragten von den Markzellen in die Lumina hinein, das Venenendothel war stellenweise nicht nachweisbar; die Massen färbten sich mit Eosin rosaroth, nach RUSSEL's Karbolfuchsin-Karboljodgrün-Methode grün wie die Kerne. Mit Alkohol und 10%iger Salpetersäure ist der Veneninhalt nicht fixirbar, und schon nach 10 Minuten langer Einwirkung von Alkohol bleibt die Bräunung in Chromsalzen aus. Zweifel an der Lebenstreue dieser Bilder äussert der Autor selbst. Es handelt sich wahrscheinlich um künstlich in die Venenräume gelangte Phaeochrommassen.

Das Stroma der Nebennieren hat FLINT nach den Methoden MALL's und SPALTEHOLZ' (s. Maceration) dargestellt und geschildert. WIESEL erhielt die schönsten Bilder mit der von BENDA angegebenen Methode zur Darstellung der Gliafasern, bei der die Objekte nach vorhergegangener Behandlung mit WEIGERT's Gliabeize im Stück und Nachbeizung in Liquor ferri sulfurici im Schnitt mit sulfalizarinsaurem Natron und nachher mit Toluidinblau gefärbt werden. Dieser Methode rühmt WIESEL trotz ihrer Komplicirtheit grosse Sicherheit und Schönheit der Präparate nach.

Für das Studium accessorischer Nebennieren ist das am besten untersuchte Objekt Mensch (PICK), Ratte (WIESEL), und zwar Ligamentum latum und Nebenhoden.

Für Operationen an den Nebennieren sind Maus und Ratte die bei weitem geeignetsten Versuchsthiere; bei den übrigen Laboratoriumsthieren, Hund, Katze, Kaninchen stört oft die Nähe der grossen Venen und die Nothwendigkeit, intraperitoneal zu arbeiten, während man bei Ratte und Maus sehr bequem vom Rücken her total exstirpiren kann (BOINET, POLL).

Die Litteratur der Arbeiten über die Nebenniere auf dem Gebiet der normalen Anatomie giebt am vollständigsten PETTIT, für die Entwicklungsgeschichte AICHEL, für die Kasuistik und den Bau der accessorischen Nebennieren, sowie für die pathologische Anatomie PICK, für die experimentellen Untersuchungen SCYMONOWICZ und HULTGREN und ANDERSSON. Vollständig ist keines dieser Verzeichnisse.

Litteratur: KAISERLING und ORGLER (VIRCH. Arch., Bd. 167, 1902), ORGLER (Inaug.-Diss., Berlin 1898), PLECNIK (Arch. Mikr. Anat., Bd. 60, 1902), MITSUKURI (Quat. Journ. Micr. Sc., Bd. 22, 1882), C. K. HOFFMANN (Verh. d. Konink. Akad. v. Wetensch. t. Amsterdam, 2. Leetie, Deel VIII, Nr. 3, 1902), INABA (Journ. Coll. Seienec Imp. Univ. Japon., Bd. 4, part 1, 1891), GIACOMINI (Proc. verb. Reale Accad. Fisiocrit. Siena 1897, Arch. ital. Biol., Bd. 29, 1898), FLESCH (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), SRDINKO (Anat. Anz., Bd. 18, 1900), LUBARSCH (VIRCH. Arch., Bd. 135, 1893), ALEXANDER (ZIEGLER's Beitr., Bd. 11, 1891). GUARNIERI und MAGINI (Rendic. d. R. Acc. dci Lincei, Bd. 4, 1888, Arch. ital de Biol., Bd. 10, 1888), GUIEYSSE (Journ. de l'Anat., Année XXXVII, 1901), PFAUNDLER (Sitz. Kais. Akad. Wiss., Bd. 101, Abth. 3, 1892), CARLIER (Anat. Anz., Bd. 8, 1892), HANS RABL (Arch. mikr. Anat., Bd. 38, 1891), BRAUN (Arb. a. d. zool.-zoot. Inst. Würzburg, Bd. 5, 1882), STILLING (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), PETTIT (Journ. de l'Anat., Année XXXII, 1896), DIAMARE (Ricerche intorno all'organo interrenale degli Elasmobranchi ed ai corpuscoli di Stannius dei Teleostei. Estratto dalle Memorie della Soc. Ital. delle scienze [della dei XI.], Ser. III, Tomo X, Roma 1896), SIGMUND MAYER (Sitz. Akad. Wiss. Wien, Bd. 6, Abth. 3, 1872), ZUCKERKANDL (Anat. Anz. Ergheft. z. Bd. 19, 1901), DOGIEL (Arch. f. Anat. u. Phys., 1894), FUSARI (Arch. ital. de Biol., Bd. 16, 1891), GIACOMINI (Arch. ital. d. Biol., Bd. 29,

1898), NAGEL (Diss. inaug. Berolin. 1838), KÖLLIKER (Verh. deutsch. Naturf. u. Aerzte, 66. Vers. Wien, T. II, H. 2, 1894), ARNOLD (VIRCH. Arch., Bd. 35, 1866), DOSTOIEWSKY (Inaug.-Diss., St. Petersburg 1884), GOTTSCHAU (Biol. Centralbl., Bd. 3, 1853), MANASSE (VIRCH. Arch., Bd. 135, 1893/94), FLINT (Anat. Anz., Bd. 16, 1899), JOHN HOPKIN'S Hospital Reports, Bd. 9, 1900), WIESEL (Sitzb. Akad. Wiss. Wien, Abth. 3, Bd. 108, 1899), PICK (Arch. f. Gyn., Bd. 64, 1901), BOINET (C. R. Soc. d. Biol., Paris, X. S., Bd. 2, 1895, Bd. 3, 1896, Bd. 4, 1897), POLL (Arch. mikr. Anat., Bd. 54, 1899), AICHEL (Arch. mikr. Anat, Bd. 56, 1901), SCYMONOWICZ (Arch. f. ges. Phys., Bd. 64), HULTGREN und ANDERSSON (Skand. Arch. f. Phys., Bd. 9, 1899).

Poll, Berlin.

Negativlack. Zum Lackiren photographischer Negative benutzt man gewöhnlich einen Lack, der besteht aus 75 Grm. gebleichten Schellacks und 75 Grm. Sandarrak gelöst in 1000 Ccm. 96%igen Alkohols mit Zusatz von 2 Ccm. Ricinusöl. Derselbe muss sorgfältig filtrirt und auf die handwarme Platte aufgegossen werden. Einen noch widerstandsfähigeren Lack erhält man durch Lösen von 10 Grm. Kollodiumwolle in 500 Ccm. Amylacetat. Man lässt die Lösung eine Woche stehen und absetzen und giesst dann die klare Schicht vom Bodensatz ab.

WEIGERT hat den Negativlack zum Einschluss grosser Schnitte (Gehirnschnitte) ohne Deckglas empfohlen. Man übergiesst den Schnitt mit dem Lack und lässt bei gelindem Erwärmen trocknen. Man wiederholt diese Procedur, bis der Schnitt völlig in den Lack eingeschlossen ist. Staubig gewordene Präparate kann man ohne Schaden abwischen, ja abwaschen.

Litteratur: WEIGERT (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887).

Nekrosebacillus (BANG), Streptothrix cuniculi (SCHMORL), Bacillus necrophorus (FLÜGGE), Bacillus diphtheriae vitulorum (LÖFFLER).

Der Nekrosebacillus färbt sich in Deckglaspräparaten mit den gebräuchlichen wässerigen Anilinfarblösungen nur schlecht, ganz gut aber mit dem LÖFFLER'schen Methylenblau und mit Karbolfuchsin. Nach KITT färbt sich der Nekrosebacillus am schönsten mit Karbolthionin, wodurch die Bacillen namentlich auch in Schnitten schön zur Anschauung gebracht werden können. Sie erscheinen dann in Form von gleichmässig gefärbten gestreckten und wellig verlaufenden, scheinbar ungegliederten Fäden. Theilweise lassen die Fäden jedoch auch durch feine Trennungslücken ihre Zusammensetzung aus aneinandergereihten Individuen erkennen. Bei der Färbung mit LÖFFLER-schem Methylenblau und besonders auch mit Karbolfuchsin zeigen die Bacillen und Fäden nicht selten helle ungefärbte Lücken, die mit scharf abgesetzten, gefärbten Theilstücken abwechseln. Nach GRAM lässt sich der Nekrosebacillus nicht färben.

Für die Schnittfärbung hat C. O. JENSEN eine den Nekrosebacillus eigenthümliche Doppelfärbungsmethode angegeben, nach der sich andere Bakterien nicht färben: Die Organstücke werden danach in MÜLLER'scher Flüssigkeit gehärtet, ausgewaschen und in Alkohol nachgehärtet. Alkoholhärtung allein ist nicht brauchbar. Die Schnitte werden einige Minuten in Toluidin-Safranin, das wie gewöhnliches Anilin-Gentianaviolett hergestellt wird, gelegt, dann mittels einer alkoholischen Safraninlösung entwässert. Hierauf Fluorescin-Nelkenöl, reines Nelkenöl, Alkohol, wässeriges Methylgrün, Alkohol, Xylol, Balsam. Nach dieser Färbung erscheinen die Bacillen schön roth gefärbt, während das Gewebe grün gefärbt ist.

Litteratur: KITT (Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie, pag. 405, 1899), C. O. JENSEN (Die vom Nekrosebacillus [Bacillus necrosus] hervorgerufenen Krankheiten, Ergebnisse der allgemeinen Pathologie von LUBARSCH und OSTERTAG, 2. Jahrg., pag. 128, 1895).

Künnemann, Breslau.

Nelkenöl wird durch Destillation von Gewürznelken, den getrockneten Blütenknospen von Caryophyllus aromatica, gewonnen. Es ist im wesentlichen ein Gemenge von einem Terpen und Eugenol (s. dort) und stellt ein gelbliches, dickflüssiges Oel von specifisch aromatischem Geruch

dar. Spec. Gew. = 1,06—1,07. Siedepunkt bei 250°. Mit Alkohol 74% ist es in jedem Verhältniss klar mischbar, in Aether, Amylalkohol und Chloroform löslich. Sein Brechungsexponent beträgt bei 20° 1,553.

Neuberg, Berlin.

Das Nelkenöl ist früher eines der beliebtesten Aufhellungsmittel gewesen und als solches auch sehr zu empfehlen, doch wirkt der Geruch auf die Dauer unangenehm. Es löst Celloidin und kann deshalb für Celloidinschnitte keine Verwendung finden. Auch die meisten Anilinfarben sind in Nelkenöl löslich, man kann deshalb die im Alkohol noch nicht ganz differenzirten Schnitte in Nelkenöl fertig differenziren, muss aber vor Balsameinschluss gut in Xylol auswaschen. Ueber das Schälibaum'sche Nelkenöl-Kollodium vergl. Aufklebemethoden.

Nemathelminthen siehe Würmer.

Nematoden siehe Würmer.

Nemertinen siehe Würmer.

Nervenfaser, Axencylinder. Der Axencylinder ist in der frischen, markhaltigen Nervenfaser bekanntlich nicht zu sehen. Um ihn sichtbar zu machen, muss das Myelin entfernt werden. Als Lösungsmittel für dasselbe kommen in Betracht absoluter Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform, ätherische Oele und Mischungen dieser Stoffe. Um den Axencylinder im frischen Präparat sichtbar zu machen, genügt es, wenn man die trocken zerzupften Fasern (eventuell etwas Anhauchen) rasch mit einem Tropfen Kollodium und dem Deckglas bedeckt.

Zur Fixation des Axencylinders der markhaltigen Nervenfaser können die verschiedensten Fixationsmittel Verwendung finden; wir nennen hier vor allem die Osmiumsäure in 0,5—1%iger Lösung, Osmiumgemische, absoluten Alkohol, Alkohol-Chloroform-Eisessig nach Carnoy, Alkohol-Eisessig nach Kronthal, Zenker'sche Flüssigkeit, Salpetersäure 3—5%, Pikrinschwefelsäure, chromsaure Salze, Sublimat und viele andere. Fast alle unsere in der Mikrotechnik benutzten Fixative erhalten den Axencylinder mehr oder weniger gut. Am meisten leistet wohl die Osmiumsäure, viel ungeeigneter erweist sich reines Sublimat. Die dicksten Axencylinder ergeben Mischungen von Alkohol mit Essigsäure, wie bei Kronthal und Carnoy. Mittels dieser Fixationen erhält man den Axencylinder als einen meist strukturlosen Strang, der keine Fibrillen hervortreten lässt. Zur Darstellung der letzteren müssen besondere Vorbehandlungs- und Färbungsmethoden in Anwendung kommen. (Näheres siehe im folgenden Artikel.)

Man fixirt die Nerven am besten im ausgestreckten Zustand, indem man neben den noch in situ befindlichen Nerven einen fein ausgezogenen Glasstab von passender Länge legt, dann an zwei Stellen beide umbindet und dann erst losschneidet und in die Fixationslösung einlegt.

Die Präparate können in Paraffin eingebettet werden.

Zur Färbung des gut fixirten Axencylinders als Ganzes können die verschiedensten Methoden Verwendung finden, sehr gute Färbung giebt das R. Heidenhain'sche Chromhämatoxylinverfahren, die Eisenhämatoxylinmethode, die van Gieson-Färbung. Aehnlich verfährt Finotti, der in Hämatoxylin färbt, in Wasser auswäscht und dann entweder 3 Minuten lang in ½—1%igem wässerigen Säurefuchsin nachfärbt und in alkalischem Alkohol differenzirt oder zunächst in koncentrirter wässeriger Pikrinsäure und dann mit Säurefuchsin färbt und wie oben differenzirt. Ziegler färbt die in Zenker fixirten Nerven zunächst 1—2 Stunden in koncentrirtem wässerigem Alizarin (Elberfeld), dann mehrere Stunden in Safranin.

Kerne roth, Axencylinder blau. von Scarpatetti lässt die Centralorgane mehrere Monate in 5—10%igem Formol liegen. Die Celloidinschnitte kommen für 5 Minuten in 1%iges Hämatoxylin, dann ebenso lange in koncentrirtes wässeriges neutrales Kupferacetat, abspülen in Wasser und differenziren in Weigert'schem Borax-Ferricyankalium. Nach Einlegen in Lithionwasser werden die Schnitte gründlich ausgewaschen und eingeschlossen. Markscheiden ungefärbt, Axencylinder blauschwarz. Wolters fixirt in Kaliumbichromat-Kupfersulfat nach Kultschitzky und beizt die Schnitte in einem Gemisch von 1 Theil 10%igen Vanadiumchlorids und 4 Theilen 8%igen Aluminiumacetats, dann färbt er in einer 1%igen wässerigen Hämatoxylinlösung mit Zusatz von 2% Salzsäure. Differenziren in Salzsäurealkohol (1/2%). Eine sehr komplicirte Methode zur Färbung der Axencylinder hat Auerbach angegeben. Kleine Stückchen werden 4—5 Stunden bei 38° in Pikrinschwefelsäure fixirt und kommen dann unmittelbar in eine Mischung von gleichen Theilen Müller'scher und Erlitzki'scher Flüssigkeit, die auf 100 Ccm. 5 Tropfen milchsauren Natrons enthält, 2 bis 4 Tage. Dann werden sie für 7 Tage in 2‰ige, im Anfange, so lange noch ein Niederschlag entsteht, zu wechselnde Höllensteinlösung eingelegt und darauf in Wasserstoffsuperoxyd (Merck), dem man auf 10 Grm. 4—5 Tropfen koncentrirter Schwefelsäure zusetzt. Abspülen in destillirtem Wasser, Alkohol und Einbettung in Paraffin oder Celloidin. Die Farblösung besteht aus 20 Grm. Hämatoxylin, 16 Grm. Chloralhydrat und 180 Grm. Wasser. Sie bleibt 8 Wochen, anfangs im Wärmeschrank, stehen, und man setzt ihr so lange täglich etwas Molybdänsäureanhydrid zu, bis ein Bodensatz davon bleibt. Färbung der Schnitte 1/4—1/2 Stunde oder auch länger, abspülen in 50%igem Alkohol und entfärben in 0,5%igem Kaliumpermanganat und der Pal'schen Säuremischung. Ersteres darf nur ganz kurz einwirken. Eine ähnlich zusammengesetzte Farblösung benutzt auch Sargent: Hämatoxylin 1 Grm., Chloralhydrat 10 Grm., 10%ige Phosphormolybdänsäure 1 Ccm., Wasser 400. Das frische Material wird in 10%igem Formol fixirt, in Wasser ausgewaschen, 24 Stunden in 5%igem Kupfersulfat gebeizt, entwässert und in Paraffin eingeschlossen. Färbung der Schnitte 1/4—1/2 Stunde. Auch Kodis hat eine ähnliche Lösung benutzt. Hämatoxylin 1 Grm., Molybdänsäureanhydrid 1,5 Grm., Wasser 100, Wasserstoffsuperoxyd 0,5. (Die Lösung ist gebrauchsfertig.) Kleine Stückchen kommen für 1—2 Tage in koncentrirte wässerige Lösung von Quecksilbercyanid und dann bis zu 3 Tagen in 10%iges Formol. Schneiden mit dem Gefriermikrotom und Färben der Schnitte in der obigen Lösung 1—2 Minuten, Auswaschen ebenso lange in Wasser. Alkohol, Xylol, Balsam. Man kann auch in Paraffin einbetten, muss dann die Stücke in sehr verdünnter Farblösung durchfärben, doch dringt die Lösung nur sehr wenig tief ein.

Paladino verwendet das Chlorpalladium in 1—2%iger Lösung und bringt kleine Stücke, die in Chromsalzen oder Sublimat fixirt und tüchtig ausgewaschen sind, zuerst in gleiche Theile absoluten Alkohol und Benzol und dann in reinen absoluten Alkohol für je 1 Stunde in den Brutschrank. Nachdem sie 24 Stunden in kaltem absoluten Alkohol verweilt haben, kommen sie für eine Woche und länger in eine reichliche Menge der Palladiumlösung und dann für 1—2 Tage in eine kleine Menge Jodkalium (4%ige wässerige Lösung). Sie werden in Alkohol entwässert und in Celloidin eingeschlossen.

Die Verwendung des früher für die Axencylinderfärbung viel benutzten Ammoniakkarmins ist jetzt wohl ganz aufgegeben. Vorzügliche Dienste leistet dagegen das karminsaure Natron. Die Präparate, periphere, aufgespannte Nerven oder nicht zu grosse Stücke der Centralorgane werden in Müller'scher Flüssigkeit gehärtet, ganz kurz in Wasser abgespült und

in einer 2%igen wässerigen Lösung des Farbstoffes 2 Tage lang durchgefärbt, dann 70%iger Alkohol, entwässern und einbetten Die Axencylinder und Nervenzellen werden dadurch ausgezeichnet gefärbt, doch scheint ähnlich wie bei der Golgimethode ein gewisser Beizungsgrad der Fasern und Zellen durch das Chromsalz für das gute Gelingen der Färbung nöthig zu sein. Man entnehme deshalb probeweise von Zeit zu Zeit kleine Stückchen des Materials zur Färbung. Für den gleichen Zweck ist von SCHMAUS das Urankarmin (pag. 638) empfohlen worden. Fixation und Einbettung beliebig. Nach der neuesten Vorschrift von CHILESOTTI setzt man auf jeden Kubikcentimeter Farblösung vor dem Gebrauch 2 Tropfen salzsauren Alkohols (1%), färbt 5 Minuten bis mehrere Stunden, differenzirt, aber nur bei Ueberfärbung, in salzsaurem Alkohol, sonst Wasser, Alkohol, Karbolxylol, Balsam.

Ueber die Darstellung der RANVIER'schen Schnürringe und der FROMANN'schen Linien vergl. Silberimprägnation, über die Darstellung des Apparato reticolare von GOLGI vergl. Golgimethode.

Litteratur: KRONTHAL (Von der Nervenzelle und der Zelle im allgemeinen. Jena 1902), FINOTTI (VIRCH. Arch., Bd. 143, 1896), ZIEGLER (Arch. klin Chir., Bd. 51, 1896), v. SCARPATETTI (Neurol. Centr., Bd. 16, 1897), WOLTERS (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1891), AUERBACH (Neurol. Centr., Bd. 16, 1897), derselbe (Mon. Psych. Neurol., Bd. 4, 1898), SARGENT (Anat. Anz., Bd. 15, 1898), KODIS (Arch. mikr. Anat., Bd. 59, 1901), PALADINO (Arch. ital. Biol., Bd. 22, 1894), SCHMAUS (Münch. med. Woch., 1891), CHILESOTTI (Centr. allg. Path., Bd. 13, 1902).

Nervenfasern und -zellen, Fibrillen derselben, Neurofibrillen (APÁTHY), (nervöse) Primitivfibrillen (MAX SCHULTZE), leitende Primitivfibrillen (APÁTHY) nennen wir heutzutage gut isolirbare, mässig stark lichtbrechende Fibrillen, welche einen charakteristischen und wesentlichen Bestandtheil der Ganglienzellen und Nervenfasern bei Wirbelthieren und Wirbellosen ausmachen. Auch in allen innervirten Zellen können sie vorkommen (Sinnesepithelzellen, Drüsenzellen, Muskelzellen u. s. w.). Sie sind immer glatt (nie varikös) und auf lange Strecken von gleichmässigem Kaliber. Färberisch sind sie den meisten allgemein gebräuchlichen Methoden nicht zugänglich. Dagegen gelingt es, durch einige besondere Methoden diese feinen Gebilde mit einer Schärfe zur Darstellung zu bringen, wie sie kaum bei einem andern Gewebsbestandtheil erreichbar ist.

Indirekt, d. h. durch Färbung ihrer Umgebung, sind die Neurofibrillen mit einigen der üblichen Methoden, wenn auch mangelhaft, darstellbar. Ihr Verhalten gegenüber dem polarisirten Licht (schwache Ablenkung des polarisirten Lichtes in frischem Zustand) ist zu ihrer optischen Darstellung ungeeignet.

In ungefärbtem Zustand sind die Neurofibrillen meistens nicht gut sichtbar. Zwar wurde die fibrilläre Struktur der Nervenfasern und Ganglienzellen von MAX SCHULTZE aus ungefärbten Präparaten (Behandlung des frischen Materials mit Jodserum) erschlossen, jedoch scheint es, dass dieser und mancher andere Forscher nicht die Fibrillen selber, sondern die Interfibrillarsubstanz (oder Perifibrillärsubstanz) gesehen haben, welche durch die eingelagerten Neurofibrillen häufig ein fibrilläres Aussehen erhält (APÁTHY). In den Ganglienzellen der Wirbelthiere wird ausserdem leicht an ungefärbten Präparaten ein fibrillärer Bau dadurch vorgetäuscht, dass man die ungefärbten Bahnen zwischen den FLEMMING-NISSL'schen Schollen sieht. Leicht sichtbar sind die Neurofibrillen an ungefärbten Schnitten durch markhaltige Nervenfasern von Wirbelthieren (Frosch, Hund, Kaninchen, Mensch).

Die Nerven müssen mit Osmiumdämpfen oder mit $\frac{1}{2}$–$\frac{1}{4}$%iger Lösung von Ueberosmiumsäure fixirt sein. Die Schnitte dürfen die Dicke von 2 µ nicht überschreiten und in verdünntem Glycerin oder in Wasser untersucht werden.

Bei diesem Objekt ist das Lichtbrechungsvermögen der Neurofibrillen stärker als das der Umgebung, so dass sie bei enger Blende und ohne Beleuchtungsapparat mit Oelimmersion betrachtet deutlich und im Positiv sichtbar sind. Innerhalb der Ganglienzellen und der Nervenfasern wirbelloser Thiere übertrifft in der Regel das umgebende Plasma die Fibrillen an Lichtbrechungsvermögen, so dass sie entweder gar nicht oder als Negativ hervortreten.

Darstellung durch Isolation.

Für die Darstellung der Fibrillen auf längere Strecken ist die Isolation ungeeignet; doch ist sie von grossem heuristischen Werth, da sie die Existenz der Neurofibrillen als objektiver Individuen beweist.

Sie gelingt leicht an den peripheren Nerven und Kommissurfasern von Wirbellosen (Hirudineen, Krustaceen [Apáthy]) und an den markhaltigen und marklosen Nervenfasern von Wirbelthieren. Aus den Ganglienzellen von Wirbellosen und Wirbelthieren sie zu isoliren, ist ausserordentlich schwer. Am leichtesten gelingt es noch bei den Protoplasmafortsätzen der Wirbelthierganglienzellen, sie auf kurze Strecken an den Bruchstellen sichtbar zu machen. Als Isolationshilfsmittel können die meisten Macerationsmethoden (s. d.) dienen. Am besten soll nach Apáthy die Isolation mit Hilfe seiner Macerationsflüssigkeit gelingen. Auch Jodserum giebt gute Resultate. Die Hauptsache ist natürlich wie bei allen Isolationen geduldiges Zupfen und nachheriges Klopfen auf das Deckglas. Sehr brauchbar ist auch besonders bei den markhaltigen Nervenfasern der Wirbelthiere die Kombination von Schneiden und Zupfen. Die Nerven werden in Osmiumsäure fixirt, in Paraffin eingebettet und $1^1/_2$ bis 2 μ dick geschnitten und mit Eiweiss aufgeklebt. Die aufgeklebten Schnitte werden dann in Wasser vorsichtig mit der Nadel behandelt und in Wasser untersucht. Auch Schnitte, die nach einer der weiter unten angegebenen Methoden gefärbt sind, geben beim Zerzupfen gute Isolationspräparate, doch hat hier die Behandlung mit der Nadel in Xylol zu geschehen. (Zur Betrachtung aller Fibrillenpräparate, mögen sie gefärbt oder ungefärbt sein, sollte immer eine gute Oelimmersion — am besten ein Apochromat — benutzt werden. Starke Trockensysteme können nur dem Kenner und diesem auch nur selten von Nutzen sein. Bei der Untersuchung ungefärbter, isolirter Fibrillen benutzt man am besten — wie dies ja selbstverständlich ist — eine enge Cylinderblende und tiefgestellten Spiegel. Sind die Fibrillen gefärbt, so müssen sie in guten Präparaten am besten bei Beleuchtung mittels der vollen Apertur des Abbe'schen Beleuchtungsapparates zu sehen sein. Die Kontour muss ganz ausgelöscht und nur das Farbenbild sichtbar sein.)

Darstellung der Neurofibrillen durch Färbung.

Die meisten der in der Histologie allgemein gebräuchlichen Färbemittel bringen die Neurofibrillen gar nicht oder nur sehr unvollkommen zur Darstellung. Gar nicht werden die Neurofibrillen durch Karmin, Orceïn und die meisten Hämatoxyline und Hämatine gefärbt. Direkt applicirte Anilinfarben (saure wie basische) und die Eisenhämatoxyline färben im allgemeinen andere Bestandtheile der Ganglienzellen und Sinnesepithelzellen viel stärker als die Neurofibrillen, so dass sie, wenn überhaupt, im allgemeinen nur im Negativ hervortreten. Bei der Versilberung frischer Wirbelthiernerven treten bisweilen deutliche Streifen im Axencylinder auf. Es handelt sich auch hier nur um eine Einlagerung von Silber in die Zwischensubstanz, nicht um Darstellung der Neurofibrillen selbst. Unter gewissen Fixirungsbedingungen, die aber noch nicht genauer bekannt gegeben sind, gelang es Mann[1]), auch mit Anilinfarben Neurofibrillen in Wirbelthierganglienzellen leidlich gut im Positiv zu färben. Am ehesten ist noch eine Darstellung der Neurofibrillen mit dem Heidenhain'schen Eisenhämatoxylin (s. d.) möglich. Der Erfolg ist jedoch sehr inkonstant und von einer vollständigen und isolirten Darstellung der Neurofibrillen keine Rede.

Eine Ausnahme von der allgemeinen Regel bilden nur die Axencylinder der markhaltigen Nervenfasern der Wirbelthiere, wenn sie in Ueberosmiumsäure (OsO_4) oder viel Ueberosmiumsäure enthaltenden Gemischen (Flemming'sche Lösung, Apáthy's Sublimat-Osmiumgemische u. s. w.) fixirt sind. Hier sind die Neurofibrillen mit vielen basischen und sauren Farbstoffen, mit verschiedenen Hämatoxylinen u. s. w. färbbar.

Die Ueberosmiumsäure schafft eben hier besondere Färbungsbedingungen. In anderen Geweben, welche Neurofibrillen enthalten, ist eine gute färberische Darstellung nur mit den specifischen Fibrillenfärbungen möglich. Von einer absoluten Specifität ist bei denselben allerdings ebensowenig die Rede wie bei den meisten anderen sogenannten »specifischen Färbungen« und ihre Specifität besteht nur darin, dass in den Geweben, für die sie geschaffen sind, eine Verwechslung der Neurofibrillen mit anderen ähnlichen Gebilden nicht möglich ist. Auch bei diesen Methoden ist die Art der Fixirung von wesentlicher Wichtigkeit. In welcher Weise sie vor sich zu gehen hat, wird bei den einzelnen Methoden angegeben werden.

Darstellung der Neurofibrillen in markhaltigen Nervenfasern der Wirbelthiere.

Fixirt wird mit Ueberosmiumsäure von $^1/_4$—1% in destillirtem Wasser oder 0,6%iger Kochsalzlösung (bei Seethieren in Seewasser) oder mit Ueberosmiumsäuregemischen (FLEMMING'sche Lösung, APÁTHY's Sublimat-Osmiumgemische, COX'sche Mischungen s. u.).

Nur bei Anwendung dieser Flüssigkeit wird ein Zusammenschrumpfen der Neurofibrillen verhindert. Brauchbar sind nur die Randpartien der Nerven, da die Osmiumsäure nur 1—$1^1/_2$ Mm. in das Gewebe gut eindringt. (In Betracht kommt höchstens noch Fixirung mit Alkohol von — 10—20° C, der auch bisweilen die Axencylinder vor dem Schrumpfen bewahrt.)

Am besten erscheint Fixirung mit der einfachen Ueberosmiumlösung oder mit Osmiumdämpfen (RANVIER). Die aufgespannten Nerven bleiben 12—24 Stunden in der Osmiumsäure, werden 12—24 Stunden mit Wasser gewaschen und in Paraffin eingebettet. Die Schnittdicke soll bei Längsschnitten so gering sein, dass die Markscheiden auf beiden Seiten vom Axencylinder entfernt sind (1—3 μ).

Die so angefertigten Schnitte können mit Säurefuchsin, Methylenblau, Toluidinblau, Eisenhämatoxylin (HEIDENHAIN), Hämateïn I a (APÁTHY), Molybdänhämatoxylin (BETHE), durch Nachvergoldung (APÁTHY) u. s. w. gefärbt werden.

Bei Anwendung der basischen Farbstoffe (Methylenblau und Toluidinblau) muss die Färbung (nach dem Abspülen mit Wasser) mit einer Lösung von molybdänsaurem Ammonium (1%) fixirt werden, da sie sonst im Alkohol beim Entwässern zum Theil verschwindet.

Bei der Färbung mit Säurefuchsin ist es zweckmässiger, nicht die Schnitte zu färben, sondern den ganzen Nerven.

(Fixirung mit Osmiumsäure wie oben, Auswaschen, Einlegen der Nerven in koncentrirte wässerige Lösung von Säurefuchsin [24 Stunden], Uebertragen in absoluten Alkohol, Xylol, respektive Chloroform oder Benzol, Paraffin. Die Schnitte dürfen nur mit Eiweiss aufgeklebt werden, da bei Anwendung von Wasser der Farbstoff trotz der Anwesenheit von Paraffin ausgezogen wird.)

Mittels dieser Methode ist es KUPFFER[2]) zum erstenmal gelungen, Neurofibrillen färberisch darzustellen. Ein Nachtheil der Methode ist die Unzulässigkeit des Aufklebens mit Wasser, da die Schnitte von 1—2 μ Dicke ohne Wasser kaum faltenlos aufzukleben sind. Es ist ihr daher folgende Methode (Färbung nach primärer Molybdänirung mittels Toluidinblau [MÖNCKEBERG u. BETHE [3]]) vorzuziehen, die auch für das Studium der Degeneration der Primitivfibrillen gute Dienste leistet und neben der Säurefuchsinmethode die sicherste Färbung der Neurofibrillen in Wirbelthiernervenfasern erzielen lässt.

Fixirung mit $^1/_4$—$^1/_2$%iger Ueberosmiumsäure (24 Stunden). Auswaschen (12 bis 24 Stunden). Alkohol 96% (12—24 Stunden). Wasser (4 Stunden). Dann für 6—12 Stunden in 2%ige Lösung von Natriumbisulfit (saures schwefligsaures Natron), welcher auf je 10 Ccm. beim Gebrauch 2—4 Tropfen koncentrirter Salzsäure zugesetzt werden. Wasser (2—4 Stunden). Alkohol-Xylol-Paraffin. Schnitte von 1—3 μ Dicke, mit Wasser oder Eiweiss-

wasser aufkleben. Aus dem Wasser kommen die Objektträger für 5—10 Minuten in eine 1—4%ige Lösung von Ammoniummolybdat (20—30° C). Kurzes Abspülen mit destillirtem Wasser, dann Färben mit aufgeschichteter Toluidinblaulösung (1 : 1000 bis 1 : 2000) bei 50—60° C 5 Minuten. Abspülen, Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Specifische Neurofibrillenmethoden.

Die besprochenen Methoden für die peripheren Nerven und markhaltigen Fasern des Centralnervensystem der Wirbelthiere können als specifisch nicht gelten, denn es ist im Axencylinder nichts vorhanden als Fibrillen und Perifibrillärsubstanz, von welchen beiden Strukturelementen die Fibrillen wenigstens nach Osmiumfixirung für die meisten Färbemittel zugänglicher sind. Wendet man dieselben Methoden auf andere Gewebselemente (Muskelfasern, Ganglienzellen u. s. w.) an, so bleibt der Erfolg aus. Andere Elemente färben sich stärker als die Neurofibrillen, so dass letztere entweder verdeckt oder verwechselt werden können. Es ist zwar bisweilen möglich, mit Eisenhämatoxylin (Flemming, Lugaro, Levi u. s. w.) und den Cox'schen Färbungen* nach Fixirung mit Sublimat oder Osmiumsäure enthaltenden Flüssigkeiten in Ganglienzellen von Wirbelthieren und Wirbellosen (Holmgren) einzelne Neurofibrillen zur Darstellung zu bringen, daneben ist aber immer soviel anderes (Nisslschollen, Gliafasern, Protoplasmastrukturen) gefärbt, dass die Bilder weder vollständig noch entwirrbar sind.

Methoden, welche den sehr dehnbaren Titel, specifisch oder elektiv, für sich in Anspruch nehmen können, besitzen wir zur Zeit fünf:

1. Die Nachvergoldung (Apáthy);
2. die Färbung mit Methylenblau in frischem Zustand (Apáthy, Dogiel, Simon, Bethe);
3. die Färbung mit Hämateïn Ia (Apáthy);
4. die Becker'sche Färbung;
5. die Färbung mit basischen Farbstoffen nach Molybdänirung (Bethe).**

Die Methode der Nachvergoldung und der Molybdänirung gehören principiell zusammen, wenn auch nicht die letztere, wie einige Autoren zu sagen beliebten, eine Modifikation der ersteren ist. Ausserdem gehört in diese Gruppe die Becker'sche Kupfermethode.

Wie oben auseinandergesetzt wurde, färben sich die Nervenfibrillen mit den gebräuchlichen Farbstoffen nicht oder sehr schwach, d. h. im Sinne der Spiro'schen Auffassung des Färbungsvorganges [5]), der Lösungskoefficient der Neurofibrillen für die gebräuchlichen Farbstoffe ist gar nicht oder wenig grösser als der Lösungskoefficient des Lösungsmittels (Wasser, Alkohol u. s. w.), in dem der Farbstoff dargeboten wird. Da nun andere Gewebsbestandtheile sehr viel höhere Lösungskoefficienten besitzen, so treten bei den gewöhnlichen Färbungen die Fibrillen nicht oder schlecht hervor. Eine Erhöhung des Lösungskoefficienten der Fibrillen durch die Art der Fixirung ist mög-

---

* Cox [4]) giebt zur Färbung der Fibrillen in den Spinalganglienzellen folgende Methoden an, die nach Ansicht des Referenten nur noch historische Bedeutung haben: Härtung in: Sublimat (koncentr.) 30, Osmiumsäure (1%) 10, Eisessig 5; oder: Sublimat (koncentr.) 15, Platinchlorid (5%) 15, Osmiumsäure (10%) 10, Eisessig 5; oder: Sublimat (koncentr.) 30, Formol 10, Eisessig 5. Hierin 2—3 Tage. Dann Auswaschen, durch Alkohol verschiedener Koncentration in Alkohol-Bergamottöl, Bergamottöl, Paraffin. Die mit Wasser aufgeklebten Schnitte kommen aus Alkohol in 20—25%ige Tanninlösung (8 Stunden), dann 5 Minuten mit viel Wasser spülen, hierauf 5—10 Minuten in Eisenoxyd-Ammoniumsulfat (2½%) für die Methylenblaufärbung oder in Brechweinstein (5%) für die Indoinblaufärbung. 10 Minuten waschen, dann färben in: Phenol (2%) 15 Ccm. + 1—2 Ccm. alkalischer Methylenblaulösung (Methylenblau 2, Kaliumkarbonat 2, Wasser 200), oder in: Alaun (5%) 10, Indoinblau BB (Merk) (5%) 20. Die Färbung dauert 12—18 Stunden. Trocknen mit Filtrirpapier. Entwässern mit Xylol 90, Alkohol 60, dann Xylol, Einlegen in eingedickten Kanadabalsam.

** Zu diesen kommt vielleicht noch die nach der Niederschrift dieses Artikels publicirte Berlinerblau-Methode von Semi Mayer. (Näheres pag. 945.)

lich, wie man dies an mit Osmiumsäure fixirten Nerven und den Resultaten MANN's sieht, doch ist auf diesem Wege, wie oben angedeutet, wohl nicht viel zu erreichen. Einer ganzen Reihe von Metallsalzen gegenüber verhalten sich nun die Neurofibrillen ganz anders. Ihr Lösungskoefficient für diese ist sehr gross, grösser als der der meisten anderen Gewebsbestandtheile, d. h. sie nehmen sehr viel der Metallsalze in sich auf. Die Schwierigkeit besteht nur darin, diese Metallsalzanhäufungen optisch sichtbar zu machen. Am einfachsten geschieht dies bei der APÁTHY'schen Nachvergoldung, nämlich durch Reduktion des Goldchlorids zu metallischem Gold. BECKER und BETHE schlagen einen komplicirten Weg ein, indem sie das angelagerte Metallsalz respektive das Ammoniumsalz einer Metallsäure (Kupfersulfat, molybdänsaures Ammonium) zur sekundären Bindung mit einem Farbstoff (Hämatoxylin, Toluidinblau) benutzen. — Die Zahl der Metallsalze und anderer schwere Metalle enthaltender Verbindungen, für welche die Neurofibrillen einen hohen Lösungskoefficienten haben, ist hiermit aber noch nicht erschöpft, auch nicht die der Mittel, um die Anlagerung optisch sichtbar zu machen. Vor allem sind es noch verschiedene andere Kupfersalze und dann Silbernitrat in ammoniakalischer Lösung, welche sich stark in der Neurofibrillensubstanz lösen. Zur Sichtbarmachung derartiger Anlagerungen kann Schwefelwasserstoff (Bildung der dunklen Schwefelmetalle), Bildung anderer gefärbter Metallverbindungen und Reduktion mit starken Reduktionsmitteln (Aldehyde, Phosphorwasserstoff u. s. w., wenn schwächere Reduktionsmittel fehlschlagen) benutzt werden. Aber es bieten sich hier mancherlei Schwierigkeiten, z. B. werden die Metallverbindungen dadurch, dass sie in den Neurofibrillen (oder anderen Gewebsbestandtheilen) gelöst sind, häufig in ihrer Reaktionsfähigkeit gestört, und das verhindert die Ausführbarkeit so mancher theoretisch sehr einfach erscheinender Darstellungsmethode. So bildet das im Gewebe gelöste Ammoniummolybdat beim Zuführen von Silbernitrat kein Silbermolybdat, das im Reagenzglas sehr leicht entsteht. (Für die chemische Natur der Molybdänsäurebindung im Gewebe und der Färbung überhaupt, deren Möglichkeit nicht geleugnet werden soll, lässt sich dieses Verhalten nicht in Anspruch nehmen, da es Beispiele genug giebt, dass die Art des Lösungsmittels verhindernd auf das Eintreten vieler chemischer Processe wirken kann.) (Die hier gemachten Angaben basiren theilweise auf Versuchen des Referenten, theilweise auf Beobachtungen, die Dr. G. EMBDEN angestellt hat.)

Es giebt also der Wege viele, auf denen man mit Hilfe des Lösungsvermögens der Neurofibrillen für Metallverbindungen dieselben zur Darstellung bringen kann; die meisten derartigen Methoden geben aber nur mangelhafte Resultate, die nur färbetheoretischen Werth haben. Von praktischer Bedeutung sind zur Zeit nur die Methode der Nachvergoldung und die der Molybdänirung, denn die seinerzeit heuristisch sehr werthvolle BECKER'sche* Methode ist durch das Molybdänsäureverfahren als überholt zu betrachten.

Worauf die vitale Färbbarkeit der Neurofibrillen mittels Methylenblau und die Färbung mit Hämateïn Ia beruht, dafür liegen bisher keine Anhaltspunkte vor.

Die Nachvergoldung (APÁTHY[6]). Von den fünf erwähnten specifischen Neurofibrillenmethoden ist die APÁTHY'sche Methode der Nachvergoldung die eleganteste. Mit geradezu verblüffender Schärfe und Deutlichkeit treten in gelungenen Präparaten die Neurofibrillen zutage. Häufig sieht man die Fibrillen tiefschwarz oder dunkelblau auf fast farblosem Grunde. Sie sind

* Die Methode BECKER's ist nicht veröffentlicht, weil ihr Erfinder die Existenz von Fibrillen durch sie nicht für bewiesen erachtet. Die hier gemachten Angaben über ihre Natur verdankt der Referent dem liebenswürdigen Entgegenkommen des Herrn Dr. BECKER.

dann nahezu optisch isolirt. In andern Präparaten ist der Grund blassroth. Diese glänzenden Resultate sind bisher nur bei einer allerdings grossen Anzahl wirbelloser Thiere zu erzielen gewesen. (Nematoden [Ascaris], Hirudineen [Hirudo, Aulostoma, Pontobdella], Oligochaeten [Lumbricus], Crustaceen [Astacus], Insekten [Apis], Tunikaten u. s. w.). Bei Wirbelthieren lassen die Präparate bisher noch zu wünschen übrig und stehen an Schönheit den mit der Molybdänmethode gewonnenen nach.

Bei den erprobten wirbellosen Thieren tingiren sich die Neurofibrillen in sämmtlichen Geweben, in denen Neurofibrillen zu erwarten sind: In Nervenfasern, Ganglienzellen, Muskelfasern, Sinnesepithelzellen (Receptionszellen), Epithelzellen, Drüsenzellen u. s. w. Das Verfahren ist an und für sich einfach, doch sind die Bedingungen für das Gelingen der Tinktion anscheinend noch nicht ganz aufgedeckt, denn sie gelingt durchaus nicht immer. Manche Blöcke färben sich Schnitt für Schnitt sehr gut, andere verhalten sich ganz refraktär. Es ist dies eine Eigenheit, die die Goldmethode mit der Molybdänmethode theilt.

Fixirt wird in Sublimat (wässerig koncentrirt) oder in Sublimatalkohol 16—24 Stunden.* Entfernung des Sublimats nach Auswaschen in Wasser mit wässeriger Jodjodkaliumlösung. Dann direkt in 95%igen Alkohol (8—12 Stunden) und zur Entfernung letzter Sublimatreste für die gleiche Zeit in alkoholische Jodjodkaliumlösung (1% KJ, 1/2% J.). Das Objekt muss ganz gelb sein. Entwässern mit Alkohol absolutus. (Es ist zweckmässig, das Jod nicht ganz zu entfernen oder, wenn es ganz entfernt ist, die Schnitte vor dem Uebertragen in die Goldlösung kurze Zeit in einer verdünnten Jodlösung zu baden.) Einbetten in Paraffin. Als Zwischenmedium hat Chloroform zu dienen. Auch in Celloidin kann eingebettet werden. Die Blöcke müssen dann in Glycerinleim aufgehoben werden.

Aufkleben der Paraffinschnitte (10 μ optimale Schnittdicke) mit Wasser oder Eiweisswasser. Entfernen des Paraffins mit Chloroform. (Reinheit, d. h. Frische des Chloroforms wesentlich.) Alkohol, destillirtes Wasser (2 bis 6 Stunden). Dann in eine Tube mit einer 1%igen Lösung von Aurum chloratum flavum (Merk) für 12—24 Stunden. Hierauf werden die Objektträger nach kurzem Abspülen mit Wasser mit der Schnittseite schräg nach unten gerichtet in eine Glastube gestellt, welche eine 1%ige Lösung von Ameisensäure (Acidum formicum) enthält. Die Tuben müssen gut und hell von allen Seiten während 6—8 Stunden beleuchtet werden, die Temperatur darf dabei aber nicht zu hoch werden. Jede Tube darf nur einen Objektträger enthalten. Der Goldniederschlag auf der falschen Seite des Objektträgers wird abgewischt, mit Wasser gewaschen und das Präparat durch Alkohol und Chloroform in Kanadabalsam gebracht.

Das sind die allgemeinen Regeln, nach deren strikter Befolgung man allerdings durchaus nicht immer zum Ziel kommt. Theilweise liegt dies am Block, häufiger an der nur schwer zu beherrschenden Beliehtung. Nach den Angaben von Apáthy kommt es darauf an, beim Belichten eine bestimmte Energiekonstante zu treffen, die in einem bestimmten Verhältniss zwischen Licht und Wärme besteht. Sicher scheint es zu sein, dass zu starkes Erwärmen während der Beliehtung schädlich ist. Man soll daher im Winter die Präparate in direktem Sonnenlicht aufstellen, während es im Sommer häufig zweckmässig ist, nur helles Tageslicht anzuwenden. Die Temperatur soll 20° C nicht übersteigen. Die Hauptsache ist natürlich wie bei allen schwierigen Methoden Geduld und Ausdauer in der Anwendung.

Sehr angenehm bei der Goldmethode ist es, dass ein Präparat, in dem eine Färbung der Neurofibrillen nicht eingetreten ist, doch nicht werthlos ist, denn es bietet eine Gewebsfärbung dar, die viele andere Färbungen an Schönheit übertrifft. Wie schon erwähnt, gelingt die Tinktion der Neurofibrillen mit Gold bei verschiedenen Thieren verschieden gut. Der Anfänger sollte deswegen immer erst mit einem bekannten Objekt, z. B. Hirudo, Färbungsversuche anstellen, ehe er sich an ein neues, noch nicht bearbeitetes Objekt macht. Das ist übrigens eine Regel, die nur allzu oft unberücksichtigt bleibt.

---

* Bei Wirbelthiernerven und Rückenmark in 1%iger Ueberosmiumsäure (1 Theil) und koncentrirter Sublimatlösung (in 1/2%iger Na Cl-Lösung) (1 Theil). Auswaschen mit Wasser, dann mit wässeriger Jod-Jodkaliumlösung (1% KJ und 1/2% J) 12 Stunden. Fixiren und die ganze weitere Behandlung bis zum Einschluss in Paraffin, resp. Celloidin geschieht, im Dunkeln, um Schwärzung nach Möglichkeit zu vermeiden.

Das Molybdänverfahren (Bethe[7]). Diese Methode füllt die Lücke aus, welche die Goldmethode lässt. Es ist nämlich mit ihrer Hilfe möglich, auch bei Wirbelthieren gut differenzirte Neurofibrillenpräparate zu erzielen. Auch bei Wirbellosen kann man gute Färbungen erzielen.

Wie schon erwähnt, beruht die Methode darauf, dass die Neurofibrillen grosse Mengen Molybdänsalz aufzuspeichern imstande sind, und dass diese (nach dem Waschen) mittels eines basischen Farbstoffes optisch sichtbar gemacht werden, indem nämlich die Molybdänsäure mit dem basischen Farbstoff eine unlösliche Verbindung eingeht. Wie bekannt, färben sich nun mit basischen Farbstoffen mancherlei Zellstrukturen sehr intensiv, vor allem die Zellkerne und die basophilen Granulationen (von diesen kommen hier hauptsächlich die Nisslschollen der Ganglienzellen in Betracht). Eine Mitfärbung dieser groben Massen würde natürlich dort, wo sie vorhanden, das Fibrillenbild wesentlich stören. Ihre Färbbarkeit muss deshalb unterdrückt werden. Dies geschieht leicht dadurch, dass man die Blöcke mit Alkalien auszieht. Es ist zweckmässig, die Anwendung starker Alkalien zu vermeiden und das sanfter wirkende Ammoniak anzuwenden. Die Wirkung ist eine vollständigere, wenn man auf das Ammoniakbad noch ein Salzsäurebad folgen lässt (auch Säuren wirken lösend auf den färbbaren Bestandtheil der Nisslschollen ein). In einem so behandelten Block vom Centralnervensystem färbt sich mit basischen Farbstoffen gar nichts, höchstens nehmen die Kerne etwas Farbe an. Durch das Molybdäniren erhalten die Kerne ihre Färbbarkeit leider wieder, indem sie auch Molybdänsalz aufnehmen; die Nisslschollen bleiben aber ganz ungefärbt nur dann, wenn die Molybdänirung bei hoher Temperatur stattgefunden hat, nehmen auch sie wieder Molybdän auf. Da die Neurofibrillen bei langdauernder Erwärmung in Molybdänlösung ihr Molybdän wieder abgeben, so sind solche Präparate werthlos.

Da die Behandlung für Wirbelthiere und Wirbellose verschieden ist, so sollen die Methoden nacheinander besprochen werden.

A. Wirbelthiere. Aus dem Rückenmark oder Gehirn werden Blöcke von 4—10 Mm. Dicke herausgeschnitten (für die Darstellung der Neurofibrillen in peripheren Organen ist die Methode unbrauchbar) und für 24 Stunden in eine 3—7,5%ige Lösung von Salpetersäure gebracht. (Die Procentangaben beziehen sich auf die gewöhnliche in den Handel kommende Salpetersäure [spec. Gew. 1,40]. Bei Anwendung stärkerer Salpetersäure, welche ausser der Fixirung auch eine Nitrirung bewirkt, erhält man bei der späteren Färbung meist keine Darstellung der Neurofibrillen, sondern der Golginetze. Schwächere Nitrirung disponirt mehr zur Färbung der Fibrillen, doch kommen bei manchen Objekten auch hierbei die Golginetze schon zur Darstellung.) Aus der Salpetersäure ohne Spülen in 95%igen Alkohol. Dann auf 24 Stunden in: Ammoniak (spec. Gew. 0,95) 1 Th., Wasser (dest.) 3 Th., Alkohol (96%) 8 Th. Für einige Stunden in Alkohol, dann für 24 Stunden in: Salzsäure (koncentrirt, spec. Gew. 1,18) 1 Th., Wasser 3 Th., Alkohol (96%) 8—12 Th. Hierauf für einige Stunden in Alkohol, dann in Wasser 2—6 Stunden. Dann Uebertragen in eine 4%ige Lösung von Ammoniummolybdat (Ammonium molybdaenicum, das weisse Präparat) für 24 Stunden. Bei allen diesen Proceduren soll die Temperatur 20° C nicht überschreiten, wenn man Fibrillenbilder erhalten will, da bei Anwendung höherer Temperaturen (besonders während der Fixirung) sich später bei der Färbung die Golginetze färben. Bei sehr fibrillenreichen Zellen ist es zweckmässig, das Salzsäurebad fortzulassen, weil sich dann die Fibrillen leichter differenziren lassen. Im allgemeinen ist dies jedoch nicht empfehlenswerth. Nach dem Molybdäniren kommen die Blöcke in Alkohol (96%), nachdem sie einen Augenblick mit Wasser abgespült worden sind.

Die Einbettung geschieht wie üblich (Xylol oder Chloroform, Paraffin). Die Schnitte werden mit Eiweiss aufgeklebt (ohne Wasser, da das Wasser das Molybdän herauslöst). Am besten vertheilt man die ersten Schnitte auf mehrere Objektträger, um mit diesen die Differenzirungszeit auszuprobiren. Wichtig ist es zu wissen, dass die Güte der Blöcke nach der Mitte zu abnimmt.

Differenzirung: Nachdem die Schnitte durch Alkohol in Wasser gebracht sind, werden sie gut mit destillirtem Wasser abgespült, dann der Objektträger unten gut trocken gemacht, eine Wasserschicht von ungefähr 1—2 Ccm. auf die Schnitte geschichtet und der Objektträger so in den Wärmeschrank gelegt (ca. 60° C.). Hier bleibt der Objektträger 2—10 Minuten. Abgiessen des Wassers, kurz Spülen, dann Aufschichten einer Toluidinblaulösung (1 : 3000), 10 Minuten färben bei 58—60° Wärme, Abspülen mit Wasser, Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen, abs. Alkohol. Xylol, Kanadabalsam. (Für die Haltbarkeit der Präparate ist es sehr wesentlich, dass Xylol und Kanadabalsam ganz wasserfrei sind. Haltbarkeit 3 Monate bis 4 Jahre.)

Die Behandlung mit warmem Wasser bezweckt Auswaschung des überschüssigen Molybdäns und Umlagerung des im Gewebe gelösten. Fibrillenarme Zellen differenziren sich schnell, fibrillenreiche langsam. Die Schnelligkeit der Differenzirung hängt ab von der Wassermenge, der Molybdänmenge im Gewebe und der Dauer der Wärmeeinwirkung. Aus den ersten drei Präparaten, die mit 2, 5 und 8 Minuten Differenzirungszeit hergestellt werden mögen, ersieht man gewöhnlich, bei welcher Differenzirungszeit das Optimum liegt. In guten Präparaten dürfen nur der Kern und die Primitivfibrillen gefärbt sein. Ist Niederschlag auf der Oberfläche vorhanden, so ist zu kurz differenzirt worden, sind die Fibrillen zu hell, so ist zu lange differenzirt. Unter zwei Minuten darf nicht differenzirt werden, da die Präparate dann mangelhaft werden. Man hat dann zu wenig Molybdän im Präparat und muss statt mit Wasser mit einer dünnen Molybdänsalzlösung (1 : 2500 bis 1 : 5000) differenziren. Auch Färbung mit stärkerer Toluidinblaulösung führt manchmal zum Ziel (1 : 1000). Ist das Präparat bei 10 Minuten noch zu dunkel, so kann man mit längerer Differenzirungszeit nichts erreichen, da sich dann eine Inversion des Bildes einstellt. Die Fibrillen bleiben ungefärbt, die Nisslschollen färben sich und der Kern, von dem sich beim typischen Fibrillenpräparat nur die Kerngranula färben, aber nicht der Nukleolus, zeigt jetzt das Bild des Nisslpräparates, d. h. der Kern erscheint leer, und nur der Nukleolus ist gefärbt. Bei solchen Blöcken muss mit grösserem Lösungsgefälle, d. h. mit grösserer Wassermenge differenzirt werden.

Manche Blöcke, auch von Objekten, die sich sonst leicht färben lassen, geben gar keine brauchbaren Präparate. Das am besten gelingende Objekt für Neurofibrillen sind die Vorderhornzellen vom Menschen, Hund und Kaninchen, für Golginetze die Zellen des Nucleus dentatus und der Oliveukerne.

B. Wirbellose Thiere. Hier können verschiedene Fixirungsmittel zur Anwendung kommen: Koncentrirte Sublimatlösung (Jodalkohol), 3%ige Salpetersäure oder Alkohol bei Hirudo, 3 Theile Pikrinsäure + 1 Theil pikrinsaures Ammoniak bei Crustaceen. Sollen die Fibrillen auch in den Zellen zu sehen sein, so muss wie bei Wirbelthieren mit Ammoniak und Salzsäure ausgezogen werden (s. oben). In diesem Fall wird wie dort im Block molybdänirt. Will man nur die Fibrillen in den Nervenfasern und dem Neuropil studiren, so lässt man das Ausziehen mit diesen Flüssigkeiten lieber fort, da die Fixirung nicht besser dadurch wird. In diesem Fall ist es auch besser, erst auf dem Schnitt zu molybdäniren (1%ige Lösung, Einwirkung 10 Minuten bei 25—30° C). Die Schnitte mancher Blöcke geben nach dem Waschen mit Wasser bei der direkten Färbung (Toluidinblau 1 : 3000, 5 Minuten bei 58° C) schon gut differenzirte Präparate, andere müssen differenzirt werden. Mit warmem Wasser, wie bei Wirbelthieren, hat man fast nie Erfolg, dagegen geben sehr dünne Lösungen von Ammoniak (Ammoniak 1 Th., destillirtes Wasser 500—2000 Th.) oft gute Resultate, wenn man die Objektträger für wenige Sekunden eintaucht, mit Wasser spült und dann schnell färbt. Der Erfolg ist unsicher, aber manchmal ausserordentlich schön. Statt der Ammoniaklösung kann man auch sehr gut Soda verwenden (1%ige Sodalösung 1 Th., 50%iger Alkohol 10—30 Th.),

Hämateïn I A. (Apáthy[6]). Fixirt wird in Sublimat oder Sublimat-Alkohol, Sublimat-Essigsäure, Pikrinsublimat-Essigsäure, Pikrinsäure, Pikrin-Schwefelsäure, Zenker'scher Flüssigkeit oder Sublimat-Osmiumsäure (nicht heiss). Die Färbung geschieht im Block entweder gleich nach dem Waschen oder nachdem die Blöcke kürzere oder längere Zeit in Alkohol aufgehoben worden sind. Die zu färbenden Stücke sollen die Dicke von 5 μ nicht überschreiten. Die Farblösung: 1 Grm. Hämatoxylin wird in 100 Ccm. 70%igen Alkohols gelöst (der Alkohol darf weder sauer noch alkalisch sein) und in reiner Flasche 6—8 Wochen reifen gelassen. Zu dieser Lösung fügt man je ein gleiches Volumen koncentrirten Glycerins und 9%ige Alaunlösung, welche ausser Alaun noch 3% Eisessig und 1‰ Salicylsäure enthält. (Diese Lösung ist lange haltbar.) Die Blöcke bleiben 2 bis 3 Tage in der Farblösung und werden dann mit zweimal destillirtem Wasser bis zu 24 Stunden ausgewaschen (wechseln!). In der Abpassung der Auswaschungszeit beruht die Schwierigkeit der Methode. Nach dem Auswaschen für 3—5 Stunden in Brunnenwasser, das aber nicht zu alkalisch sein darf, dann für 2 Stunden in destillirtes Wasser, möglichst kurze Zeit in Alkohol, dann in Chloroform und Einbetten in Paraffin.

Auch Einbetten in Celloidin ist zulässig, doch hält sich die Färbung darin nur, wenn die Blöcke in Glycerinleim aufgehoben werden. Ist die Färbung gelungen, so erscheinen die Neurofibrillen tief dunkelblau auf farblosem oder blassblauem Grunde. Die Färbung eignet sich hauptsächlich zur Darstellung der grösseren Fibrillenbahnen in den Nerven und Kommissuren wirbelloser Thiere. Auch hier ist die Färbung selten vollständig, es treten vielmehr gewöhnlich nur einzelne Neurofibrillen, diese dann aber in vollständiger Ausdehnung zutage. Für die Darstellung der Fibrillen in den Ganglienzellen ist die Methode im allgemeinen wenig geeignet, weil sich andere Bestandtheile der Zellen in der Regel zu stark mitfärben.

Die Färbung der Neurofibrillen mit Methylenblau in frischem Zustand (Apáthy[8]), Simon[9]), Bethe[19]).

Bei der Färbung des frischen Gewebes mittels Methylenblau scheint nach den Erfahrungen Apáthy's und eigenen Beobachtungen des Referenten eine Färbung der Neurofibrillen das Primäre zu sein, wenigstens trifft dies für Hirudo und Carcinus sicher zu. Die Färbung der Perifibrillärsubstanz und des Ganglienzellprotoplasmas schliesst sich erst sekundär daran an. Sicher ist, dass zum Gelingen der Tinktion wie der Methylenblaufärbung überhaupt das Gewebe in frischem Zustand sein muss, d. h. es darf in keiner Weise durch Chemikalien geschädigt sein. Ob das Gewebe leben muss, darüber sind die Ansichten getheilt (siehe Methylenblaunervenfärbung). Durch die sekundäre Färbung der Perifibrillärsubstanz u. s. w. wird die Neurofibrillenfärbung verdeckt, sie kann aber später wieder deutlich werden, indem bei der immer sich von selber einstellenden Entfärbung (vorausgesetzt, dass nicht inzwischen fixirt worden ist) die Fibrillen sich am langsamsten entfärben. Diesen Moment bei der Fixirung abzupassen, ist kaum möglich, weil die Fixirung nicht momentan eintritt. Wenn man aber viele Präparate macht, so kann man wenigstens bei der Fixirung mit Ammoniummolybdat ziemlich häufig schöne Fibrillenpräparate erhalten (Simon, Bethe). Ist auf der Höhe der Färbung mit pikrinsaurem Ammoniak fixirt worden, so kann sekundär eine Differenzirung der Fibrillen mittels dünner Ammoniaklösung erzielt werden (Apáthy). Diese Präparate halten sich aber nicht. Haltbare Präparate mit schöner sekundärer Differenzirung der Neurofibrillen erhielt Apáthy auf folgende Weise: Möglichst kurz dauernde Färbung kleiner Stücke mit Methylenblaulösung von 1 : 1000 bis 1 : 100.000 (eventuell Auswaschen mit Wasser), dann Fixiren mit 1%iger Ammoniumpikratlösung, der auf 100 Ccm. 5 Tropfen koncentrirten Ammoniaks oder 1—2%igen kohlensauren Ammoniaks zugesetzt sind (nicht bewegen!). Dann Einlegen in 50%iges Glycerin, das mit Ammoniumpikrat gesättigt ist, definitiver Einschluss in

Gummisyrup (50%iges Glycerin 2 Th., gesättigte Zuckerlösung 1 Th., gesättigte Gummi arabicum-Lösung 1 Th.).

Litteratur: [1]) Mann (Verh. anat. Ges., Kiel 1898), [2]) Kupffer (Abh. könig. Bayer. Ak. Wiss. 1883), [3]) Mönckeberg und Bethe (Arch. mikr. Anat., Bd. 54, 1899), [4]) Cox (Anat. Hefte, Bd. 10, 1898), [5]) Spiro (Ueber physikalische und physiologische Selektion, Habilitationsschrift, Strassburg 1897), [6]) Apáthy (Mit. zool. Stat. Neapel, Bd. 12, 1897), [7]) Bethe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), [8]) Apáthy (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), [9]) Simon (Journ. intern. d'anat. et de physiol., 1894), [10]) Bethe (Arch. mikr. Anat., Bd. 51, 1898).

Bethe, Strassburg.

Nervenfasern, Markscheiden der. Von Mitte der Sechziger- bis Mitte der Achtzigerjahre des verflossenen Jahrhunderts war die Histologie des Centralnervensystems, insonderheit die pathologische, wesentlich von der Karminfärbung beherrscht. Zwar hatten verschiedene Autoren schon versucht, die von Cohnheim für das peripherische Nervensystem eingeführte Goldfärbung auch auf das centrale Nervensystem zu übertragen (Gerlach), aber die Resultate waren zu unsichere, so dass diese Methode sich nicht so recht einbürgerte. Für pathologische Zwecke war dieselbe natürlich erst recht unbrauchbar. Auch die Anwendung anderer Agentien, z. B. die des Brönner'schen Fleckwassers (Henle), des molybdänsauren Eisens (Merkel) etc. vermochten die Karminfärbung nicht zu verdrängen.

Was zeigten denn aber nun »gute« Karminpräparate? An diesen war eigentlich alles roth gefärbt mit Ausnahme der Markscheiden. Freilich waren gewisse Nuancenunterschiede zwischen den tiefroth tingirten Axencylindern und den etwas helleren Neurogliamassen, dem Bindegewebe und den Ausläufern der Nervenzellen vorhanden, aber die Differenzen waren doch nicht scharf genug, um z. B. innerhalb der grauen Substanz andere als die gröbsten Axencylinder deutlich erkennbar zu machen. Die Methode versagte überhaupt überall da, wo die Axencylinder nicht von einer dickeren Markscheide eingehüllt waren, z. B. also auch in der weissen Hirnsubstanz, von der grauen gar nicht zu reden. Man war aber so an die Karminbilder gewöhnt, dass man eigentlich gar nichts Besseres verlangte und sich nur bestrebte, mit zuverlässigeren Methoden dasselbe Ziel zu erreichen. Es war nämlich nicht immer leicht, die typischen Färbungen durch Karmin zu erhalten. So suchte man denn die Darstellung des »neutralen« Karmins zu verbessern, man vermied die Alkoholbehandlung der mit Müller'scher Flüssigkeit gebeizten Stücke (Gudden) oder wandte andere Beizungen an, z. B. Platinchlorid (Henle und Merkel) etc. Schliesslich erkannte man, dass man dasselbe wie mit Karmin auch mit anderen, wie wir jetzt sagen würden, »sauren« Farbstoffen erreichen könnte, und so ersetzte man denn jenes durch die (damals bekannten) sauren Anilinfarben, Nigrosin, Indulin, wasserlösliches Anilinblau oder dergleichen. Alle diese Veränderungen der Methodik vermochten wohl die Resultate sicherer, aber nicht besser zu machen.

Trotz aller Unvollkommenheiten stellten die Karminfärbungen und die ihr entsprechenden anderen gegen früher doch einen grossen Fortschritt dar, und jeder, der die Anfangszeiten der histologischen Technik noch einigermassen miterlebt hat, wird sich des Erstaunens erinnern, welches die ersten Karminbilder des Centralnervensystems, die er zu sehen Gelegenheit hatte, bei ihm erregten. Ich selbst erinnere mich noch sehr wohl an die begeisterten Worte, mit denen Du Bois-Reymond uns die Copie eines von Clarke herrührenden Bildes eines Rückenmarksquerschnittes, der mit Karmin gefärbt war, vorführte, und wir alle hatten wohl die Idee, dass es doch etwas Grosses sein müsste, ein solches Präparat anfertigen zu können. Man darf auch nicht vergessen, dass mit der Karminmethode alle die grundlegenden Entdeckungen auf dem Gebiete der normalen und der pathologischen Anatomie des Centralnervensystems gemacht worden sind, so dass man gegen die

Erfinder dieser Methode, GERLACH und CLARKE, stets ein Gefühl der Dankbarkeit wird haben müssen, ebenso wie für die Entdecker der härtenden und beizenden Eigenschaft der Chromverbindungen, LUDWIG LEVIN JAKOBSON und HEINRICH MÜLLER.

Der erste, der eine Methode fand, bei der nicht der Axencylinder, sondern ein anderer Bestandtheil der centralen Nervenfasern dargestellt wurde, war EXNER [1]) in Wien. Er fand die ganz überraschende Thatsache, dass gerade die feinsten Nervenfasern in der Grosshirnrinde dadurch kenntlich gemacht, ja ganz besonders scharf hervorgehoben werden konnten, dass man sich um den Axencylinder gar nicht kümmerte, sondern einen Theil der Scheide desselben färbte. Freilich dachte EXNER nicht daran, dass es sich bei seiner Methode um die eigentliche Markscheide handelte, sondern er meinte, dass das, was sich schwarz auf hellem Untergrunde hervorhob, die KÜHNE-EWALD'sche Hornscheide wäre. Seine theoretische Ueberlegung war auch von der Anschauung geleitet, dass es sich hierbei um eine Keratinsubstanz handelte. — Kurz gesagt bestand die EXNER'sche Methode darin, dass die Stücke des Centralnervensystems in Osmiumsäure gehärtet wurden, dann ohne eigentliche Einbettung, nur mit Siegellack aufgeklebt, geschnitten und endlich in durch Ammoniak schwach alkalisch gemachtem Glycerin untersucht wurden. Dann sah man die feinsten Nervenfasern schwarz auf hellem Grunde. Diese Methode ist von TUCZEK zu seinen schönen Untersuchungen über den Nervenschwund bei der progressiven Paralyse mit Erfolg benutzt worden. Zum »Hausgebrauch« eignet sich diese Methode aber nicht. Einmal mussten immer nur sehr kleine Stückchen eingelegt werden, da die Osmiumsäure in frische Präparate nur sehr wenig tief eindringen kann. Sodann waren die Schnitte nur sehr kurze Zeit haltbar. Weiterhin waren alle übrigen Bestandtheile der Nervensubstanz durch die Behandlungsweise zerstört, und endlich war sie, wie alle Imprägnationsmethoden, nicht sicher genug — von dem theuren Preise der Osmiumsäure gar nicht zu reden.

In dem Jahre 1882 gelang es mir nun, eine eigentlich färberische Darstellung der Markscheiden zu finden, und zwar mit der ausdrücklichen Erkenntniss, dass es sich wirklich um eine Färbung gerade in der Markscheide handelte. Ich habe an einem anderen Orte bereits eine Schilderung des Weges gegeben, auf dem ich zu dieser Methode gelangt bin, und auf dem ich dann die allmählichen Verbesserungen der anfänglichen Methode zu Stande brachte (MERKEL-BONNET's Ergebnisse, 1897, pag. 1 ff.). Ich kann das hier nicht noch einmal alles wiederholen und verweise Interessenten auf die genannte Abhandlung.

An dieser Stelle möchte ich nur bemerken, dass erst lange Versuche nöthig waren, um zu der Erkenntniss zu gelangen, dass es sich bei der Markscheidenfärbung nicht um eine direkte Tinktion des Myelins handelt, sondern dass die Farbsubstanz sich mit einer Beize verbinden musste, die ihrerseits wieder an die Markscheide verkettet war. Wenn wir die Ausdrücke aus der neueren Immunitätslehre hier brauchen wollen, so stellt also die Beize einen »Amboceptor« dar, der sich mit dem Myelin einerseits, mit der Farbe andererseits verbinden muss, wenn ein Resultat zustande kommen soll. Die Farbe entspricht demnach dem »Complement« (bei den Hämolysinen z. B.). Ich bemerkte auch gleich anfangs, dass nicht die ganze Masse der Markscheide an der Färbung betheiligt war. Vor kurzem hat denn in Bestätigung meiner Vermuthung WLASSAK gefunden, dass es sich bei der Tingirung der Markscheiden speciell um das in diesen enthaltene Protagon handelt.

Zunächst hatte ich auf der Naturforscherversammlung in Eisenach (1882) eine Methode vorgetragen und durch Präparate illustrirt, die darin bestand, dass die Schnitte aus in Kaliumbichromat in üblicher Weise ge-

härteten Stücken mit Säurefuchsin (rosanilinsulfosaurem Natrium) gefärbt, mit Kalialkohol behandelt, dann wieder in Wasser gebracht, in Alkohol entwässert, in Nelkenöl aufgehellt und schliesslich in Balsam eingeschlossen wurden. Im Kalialkohol werden die vorher leuchtend rothen Schnitte gelb und verlieren einen Theil ihres Farbstoffes, dessen Rest nach dem Einbringen in Wasser wieder schön roth wird. Den Chemikern war diese Reaktion des Säurefuchsins, wenigstens damals, ganz unbekannt.

Diese Methode zeigte gegenüber den damals üblichen Karmin- etc. Präparaten erheblich mehr*, sie machte aber nur auf wenige Leute Eindruck Man war eben noch so an die Karminschnitte gewöhnt, dass man die abweichend erscheinenden Bilder nicht recht goutirte und ich wäre sehr entmuthigt heimgekehrt, wenn nicht der damals anwesende GUDDEN (senior) mir so freundlich anerkennende Bemerkungen gemacht hätte, dass ich mich wieder arbeitsfroh an die Verbesserung der Methode wagen konnte. Wie wenig man damals geneigt war, die alten Färbungen einer neuen weichen zu lassen, mag man daraus erkennen, dass ich einem Kollegen, der sehr viel Nervenmaterial zur Disposition hatte, die Methode ganz vergeblich »anbot«.

Die ja nach unseren jetzigen Erfahrungen noch unvollkommene Säurefuchsinmethode ist demnach in weitere Kreise gar nicht eingedrungen. Nichtsdestoweniger ist sie nicht ganz fruchtlos gewesen. Einmal war dadurch das Säurefuchsin überhaupt erst in die histologische Technik eingeführt worden und dann ist sogar die Benutzung des Kalialkohols nicht gänzlich verschollen. STRÖBE hat denselben viele Jahre später zu seiner Methode der Axencylinderfärbung wieder hervorgeholt und mit Erfolg bei der Verwendung eines anderen sauren Anilinfarbstoffes (des wasserlöslichen Anilinblaus) verwendet.

Auch die nächste Methode ist eigentlich nur von meinem Schüler LISSAUER verwerthet worden. Sie stellte gewissermassen das Gegentheil der Säurefuchsinfärbung dar, indem sie nicht von diesem, sondern von dem gewöhnlichen Fuchsin, also einem basischen Farbstoffe ausging und als für die Differenzirung nicht ein Alkali, sondern eine Säure (Salzsäure) benutzt wurde. Ich habe diese Methode auf der Freiburger Naturforscherversammlung (1883) demonstrirt und beschrieben. Im Druck erschien sie in der unter meiner Leitung gemachten Arbeit des oben erwähnten, leider so früh verstorbenen Dr. LISSAUER[2]) über die Veränderungen der CLARKE'schen Säulen bei Tabes dorsalis.

An dieser Methode ist nur das noch bemerkenswerth, dass hier, wie ich glaube, zum ersten Male ein basischer Anilinfarbstoff mit einer Beize verwendet wurde. Später ist das noch mehrfach geschehen, z. B. bei der LÖFFLER'schen Geisselfärbung der Bacillen.

Schon in der Mittheilung von LISSAUER war nun aber diejenige Methode der Markscheidenfärbung angedeutet, die dann endlich befriedigendere Resultate geben sollte: die Färbung mit Hämatoxylin.** Es erscheint jetzt mir selbst sehr merkwürdig, dass ich, nachdem ich doch längst erkannt hatte, dass es sich hier um eine Beizenfärbung handelte, doch erst so spät die eigentlichen Beizfarbstoffe benutzt habe. Aber man kommt ja auf das Nächstliegende oft genug zu allerletzt. Ich gebrauchte zunächst verschiedene Alizarinfarbstoffe, die ja der Typus der Beizfarbstoffe sind. Aus dieser Zeit stammt denn auch die Verwendung der alkalisch gemachten Ferridcyankaliumlösung

---

* Wenn daher KAES (Münchener med. Wochenschr., 1902, pag. 919) sagt, dass diese Methode »ein ganz misslungener Versuch« gewesen sei, so ist diese Aeusserung nur ein Zeichen dafür, dass die jetzige Generation absolut keine Ahnung mehr davon hat, in welchem Zustande sich die Technik des Centralnervensystems vor 20 Jahren befand.

** Ausführlich zuerst mitgetheilt: Fortschritte der Medicin, 1884.

als Differenzirungsmittel, auf das ich durch eine Bemerkung in dem Werke von GUSTAV SCHULTZ »Die Chemie des Steinkohlentheers« aufmerksam gemacht worden war (pag. 953 der ersten Auflage). Die Ergebnisse waren aber noch nicht zufriedenstellend, so dass ich denn schliesslich auf das den Histologen auch sonst so vertraute Hämatoxylin überging. Zuerst verwendete ich noch den bis dahin allein in der Mikroskopie benutzten Alaunlack des Hämatoxylins. (Unter Lacken versteht man die meist unlöslichen Verbindungen von Farbstoffen mit Metallderivaten.) Auch da waren keine guten Resultate zu erzielen. Endlich sagte ich mir, dass ja in den chromgebeizten Stücken bereits eine Metallverbindung vorläge, mit der sich das Hämatoxylin direkt kombiniren könnte. Es galt aber noch eine passende Hämatoxylinlösung zu finden. Das Hämatoxylin muss ja erst »reifen«, wie man sich damals ausdrückte, oder, wie wir das jetzt durch die Arbeiten von PAUL MAYER genauer kennen gelernt haben, es muss sich das Hämatoxylin in Hämateïn umwandeln. Um das schnell zu erreichen, setzte ich der 1%igen wässerigen Hämatoxylinlösung etwas Alkali in Form von Lithium carbonicum zu. Dass ich durch diesen Kunstgriff auch vom theoretischen Standpunkte das Richtige getroffen habe, hat PAUL MAYER hervorgehoben.

Der Process gestaltete sich nunmehr so, dass die Schnitte aus in üblicher Weise mit Kaliumbichromat gebeizten Stücken mit der erwähnten Hämatoxylinlösung überfärbt und dann in der durch Boraxzusatz alkalisch gemachten Ferridcyankaliumflüssigkeit differenzirt wurden. Auf diese Weise erhielt ich denn in der That für Rückenmark, Medulla oblongata etc., sehr schöne Präparate, aber für das Grosshirn mit seinen feinen Rindenfasern reichte auch die jetzt schon wesentlich vervollkommnete Methode immer noch nicht aus.

Ich ging nunmehr dazu über, auch andere Beizen zu versuchen, da ich mit Variirung des Farbstoffes keine besseren Resultate erhalten konnte. Ich versuchte Blei-, Zinn-, Eisen-, Vanadiumlacke und andere, fand aber schliesslich einen besonders bequem und praktisch: den Kupferlack.[3]) Jetzt endlich nach dreijähriger unausgesetzter Arbeit war ich insofern ans Ziel gelangt, als ich auch die feinsten* Fasern zur klaren Darstellung bringen konnte. Es waren ja noch mancherlei Wünsche zu erfüllen, aber, wie ich bereits in meinem Aufsatze in MERKEL-BONNET's Ergebnissen gesagt habe: »diese Wünsche waren sekundärer Natur. Die Hauptsache war eben doch, dass nunmehr zum erstenmale nachgewiesen war, dass mit Hilfe einer Färbemethode die allerfeinsten Markfasern des Centralnervensystems dargestellt werden konnten. Nachdem das erst einmal festgestellt worden war, war es ein leichtes, durch Modifikationen der Methode Verbesserungen zu versuchen, und es sind denn auch eine erkleckliche Zahl von Modifikationen zu verzeichnen, von denen ein kleiner Theil auch von mir selbst herrührt. Alle, welche Modifikationen der Methode vorgenommen haben, haben sich an das von mir zuerst aufgestellte Princip gehalten, die Markscheiden dadurch differenzirt sichtbar zu machen, dass man die Präparate zunächst mit einer Metallverbindung beizte und dann einen »beizenfärbenden« Farbstoff darauf einwirken liess. Fast alle haben gleich mir (in meinen ersten Veröffentlichungen) zunächst eine Ueberfärbung eintreten lassen und dann durch irgend eine Reagenz die überschüssige Farbe herausgezogen.«

In dem eben erwähnten Aufsatze habe ich diese Modifikationen genauer durchgesprochen. Ich müsste an dieser Stelle einen Abdruck der betreffenden Stellen geben, wenn ich dasselbe jetzt wieder unternehmen wollte. Das lohnt sich um so weniger, als die Forscher von diesen Modifikationen gegen-

* Als solche sind nicht, wie viele glauben, die Tangentialfasern der Grosshirnrinde anzusehen (diese sind leicht zu färben), sondern die Fasern der darunter liegenden »supraradiären« Schicht.

wärtig so gut wie keinen Gebrauch mehr machen, sondern mehr und mehr zu meiner alten Methode zurückgekehrt sind. Ich will daher hier nur einiges erwähnen.

Die Vorschläge, die zur Veränderung meiner Methode gemacht worden sind, kann man je nach dem Stadium, in dem sie einsetzen, in mehrere Unterabtheilungen bringen: in solche, die die primäre Beizung, in solche, die die sekundäre betreffen, sodann in solche, die die Färbung, oder endlich in solche, die die Differenzirung modificiren wollen.

1. Die primäre Beizung forderte schon aus dem Grunde zu Modifikationen heraus, weil die zur Zeit meiner Versuche allgemein übliche Härtung in MÜLLER'scher Flüssigkeit ungemein lange Zeit beanspruchte. So war ich denn selbst der erste, der nach der Richtung reformirend aufzutreten versuchte, dass ich schon 1882 eine »Schnellhärtung« anstrebte.[4]) Ich versuchte allerlei neue Metallbeizen (z. B. pikrinsaures Kupferoxyd), grub auch eine ganz vergessene Beize, die ERLITZKI'sche Flüssigkeit, wieder aus, die dann durch Alkohol- und Essigsäurezusatz modificirt als KULTSCHITZKI'sche von anderen später benutzt wurde. Alles das führte aber nicht zu dem von mir angestrebten Ziele. Ich begnügte mich daher eine Zeit lang mit der Verwendung von koncentrirter Lösung von Kaliumbichromat, die ich als erster mit der Verwendung der Brutofentemperatur kombinirte (man hatte bis dahin noch niemals die Brutofentemperatur für derartige histologische Zwecke verwendet, soviel ich wenigstens weiss). Andere benutzten Osmiummischungen verschiedener Art in Verbindung mit Chromaten oder Chromsäure, noch andere später dann die ZENKER'sche Mischung von Kaliumbichromat mit Sublimat und Eisessig. (Neuerdings ist eine ähnliche Flüssigkeit sehr warm von LAVDOWSKI empfohlen worden.) Endlich kam ich aus Gründen, die ich a. a. O. in den Ergebnissen von MERKEL-BONNET nachzulesen bitte, zu der Anschauung, dass es am besten wäre, wenn man mit dem hochoxydirten Chromsalz, dem Bichromat, eine niedere Oxydationsstufe des Chroms von vornherein bei der primären Härtung kombinirte, und so schlug ich denn vor, zu einer 5%igen Lösung von einem Bichromat (Kalium-, Natrium-, oder Ammoniumbichromat) 2% Chromalaun zuzufügen. Das Chromalaun vertauschte ich dann sehr bald mit Fluorchrom*, das die Stücke nicht so leicht brüchig werden lässt. In einer solchen Flüssigkeit wurden kleine, vorher eventuell in Formol gehärtete Stücke in 4—5 Tagen vollkommen braun gebeizt, während sie sonst bei kürzerem Aufenthalte in reinem Bichromat nur gelb werden und die Differenzirung in weisse und graue Substanz durch keinen ausgesprochenen Farbenunterschied markiren.

Manche Autoren haben ein Gewicht darauf gelegt, die primäre Beizung erst an den Schnitten vorzunehmen. Einmal ging der ganze Process dann schneller, und sodann konnte man an den ungebeizten Schnitten auch andere Färbungen vornehmen, die die Chromirung verhinderte, wenigstens wenn man das Chrom nicht durch eine reduktive Behandlung der Schnitte unschädlich machte. Ganz besonders verführerisch war es, die primäre Beizung an den Schnitten erst vorzunehmen, nachdem man durch FERDINAND BLUM das Formol als Härtungsmittel kennen gelernt hatte. So hat denn z. B. GUDDEN junior[5]) eine Methode angegeben, bei der man aus Formolpräparaten entnommene Schnitte in der Wärme mit 0·55%iger Chromsäure beizte (Neurologisches Centralblatt 1897). Ich möchte mich aber nach meinen Erfahrungen doch nicht für ein derartiges nachträgliches Beizen von Formolschnitten aussprechen. Auch in Formol vorgehärtete Präparate erfahren nämlich durch die nothwendig folgende Alkoholbehandlung eine mehr oder weniger weit gehende Destruktion der Markscheiden, wenn auch nicht so

---

* Veröffentlicht in MERKEL-BONNET's Ergebnissen a. a. O. pag. 14.

stark wie Stücke, die mit Alkohol allein gehärtet wurden. Die Bichromathärtung ist in dieser Beziehung viel schonender, und da der Zeitaufwand bei primärer Chromirung der ganzen Stücke gegenwärtig auch kein so grosser ist, so bin ich bei dieser geblieben.

2. Was die sekundäre Beizung anbelangt, so hat diese denselben Zweck, wie ihn die »Verstärkungsmittel« in der Photographie haben. Da die reine, wenn auch auf die Hälfte der gesättigten verdünnte Lösung von essigsaurem Kupferoxyd, die ich anfänglich empfohlen hatte, leicht Niederschläge giebt, die für das Messer recht gefährlich werden können, so hatte ich vorgeschlagen, der eigentlichen Kupferung eine solche mit einer Lösung von essigsaurem Kupferoxyd in Seignettesalz (gleiche Theile einer 10%igen Seignettesalzlösung und einer gesättigten wässerigen Lösung von Cuprum aceticum neutrale) vorauszuschicken.[6]) Später habe ich dann gefunden, dass man denselben Zweck schneller erreicht, wenn man anstatt der einfachen Lösung von essigsaurem neutralen Kupferoxyd die von mir als »Neurogliabeize« empfohlene Flüssigkeit verwendet, nur ersetze ich auch in dieser das Chromalaun durch Fluorchrom, wobei das starke Kochen der Flüssigkeit überflüssig ist. (Also 5% Cuprum aceticum neutrale, 2½% Fluorchrom, 5% Essigsäure der Pharmakopoea Germanica.) Man kann auch unter Umständen eine Eisenbeize (Ferridammonium sulfuricum 5% mit 5% Essigsäure) benutzen, doch muss man die so gebeizten Stücke sehr gut auswaschen, weil sonst die Messer stark rosten. Andere haben andere sekundäre Beizen empfohlen, über die ich a. a. O. berichtet habe, oder haben, wie WOLTERS, die Schnitte erst nach der Färbung (mit Kaliumbichromat) sekundär gebeizt.

3. Die ursprünglich von mir angegebene Färbeflüssigkeit bestand aus 1 Grm. Hämatoxylin, 10 Ccm. Alkohol, 90 Ccm. Wasser und aus 1 Ccm. einer kalt gesättigten Lösung von Lithium carbonicum. Man stellt sich diese Flüssigkeit gewöhnlich so dar, dass man eine 10%ige alkoholische Lösung von Hämatoxylin als Stammflüssigkeit benutzt und dann entsprechend verdünnt. Als Modifikationen hat man theils des hohen Preises des Hämatoxylins wegen die Muttersubstanzen desselben benutzt (Campecheholzextrakt oder Blauholz selbst), theils hat man ähnliche Farbstoffe verwendet (Pernambukholz, japanisches Rothholz, Galleïn etc.). Andererseits hat man die Alkalescenz der Farbstoffe entweder verstärkt (auch ich für die Färbung ohne Differenzirung, die ich aber wieder aufgegeben habe, ferner PAL, BERKLEY etc.) oder vermindert, ja KULTSCHITZKI empfiehlt sogar statt der alkalischen Lösung eine mit Essigsäure (2%) angesäuerte Hämatoxylinlösung, die von vielen Forschern sehr gerühmt wird.

Gegenwärtig wende ich mit sehr gutem Erfolge eine andere Hämatoxylinlösung an, die wieder an meine allerersten Versuche in der Hämatoxylinmarkscheidenfärbung anknüpft. Ich benutze nämlich zur Färbung der wie gewöhnlich chromirten und mit Kupfer sekundär gebeizten Schnitte nicht wie damals den Alaunlack, sondern einen Eisenlack, aber nicht in der Weise wie BENDA, HEIDENHAIN etc. mit gesonderter Einwirkung von Eisen und Hämatoxylin, sondern ich färbe mit einem bereits fertigen Eisenlack, wie er meines Wissens noch nicht in Anwendung gezogen wurde. Die Färbflüssigkeit besteht aus gleichen Raumtheilen folgender Stammlösungen: 1. 4 Ccm. des officinellen Liquor ferri sesquichlorati in 96 Ccm. Wasser, 2. 10 Ccm. der üblichen 10%igen alkoholischen Hämatoxylinlösung in 90 Ccm. 96%igen Alkohols. Von diesen beiden Flüssigkeiten mischt man gleiche Raumtheile unmittelbar vor dem Gebrauch, schüttelt um und giesst die ganz schwarze Mischung auf die Schnitte, die man bei Zimmertemperatur über Nacht, oder wenn es einem gerade passt, auch länger in der Farbe lässt. Dann giesst man die Flüssigkeit fort, wäscht mit Wasser ab und differenzirt in der gewöhnlichen Weise mit Borax-Ferridcyankalium.

Hierbei färben sich nicht nur die feinsten Fasern (auch in schwieriger zu behandelnden Thiergehirnen), sondern man erhält trotz der Differenzirung mit rothem Blutlaugensalz einen ganz hellen Untergrund. Auch die groben Markscheiden, z. B. der Nervenwurzeln werden sehr gut gefärbt.*

4. Die von mir ursprünglich angegebene Differenzirungsflüssigkeit (Ferridcyankalium $2^1/_2$%, Borax 2% in Wasser) war nicht die einzige, die ich versucht hatte, doch habe ich die anderen, z. B. mit Salzsäure angesäuertes Glycerin, nicht für so gut gefunden. Ich bin auch jetzt noch bei jener Differenzirungsflüssigkeit stehen geblieben, die man nur eventuell bei heikleren Präparaten, z. B. bei embryonalen Objekten, noch weiter verdünnen kann. Gerade diese Flüssigkeit entfärbt nämlich langsam genug, um die richtige Zeit abmessen zu können, in der die Differenzirung vollendet ist, aber doch nicht so langsam, dass das Arbeiten mit ihr beschwerlich wäre.

Andere Autoren haben andere Differenzirungsmittel empfohlen, von denen eigentlich nur das von Pal empfohlene Verfahren [8]) Anerkennung gefunden hat. Pal verwendete eine schon vorher von Lustgarten zur Entfärbung von (mit Methylviolett) überfärbten Schnitten benutzte Methode (mit einer geringen Veränderung) für die Differenzirung von Markscheidenpräparaten, deren Färbung er in der von mir angegebenen Weise vorgenommen hatte. Lustgarten [9, 10]) hatte nämlich ein in der Technik als Bleichmittel erprobtes Mittel in die Histologie übertragen. Es bestand darin, dass die überfärbten Schnitte zuerst mit Kalium hypermanganicum ($^1/_2$%ige Lösung) behandelt und dann in schweflige Säure gebracht wurden. Pal verfuhr bei der Markscheidendifferenzirung ebenso, nur stellte er sich die schweflige Säure dadurch her, dass er Kalium sulfurosum und Oxalsäure zu je $^1/_2$% in Wasser löste. Diese Differenzirungsmethode giebt sehr elegante Bilder, ist aber nur für sehr dicke Schnitte zu empfehlen, da man bei ihr, im Gegensatz zu der von mir angegebenen, die Veränderungen in den Schnitten nicht während der ganzen Differenzirungsprocedur mit dem blossen Auge oder eventuell dem Mikroskope verfolgen kann. Erst nach der zweiten Schnittbehandlung erkennt man ja, ob man mit der Einwirkung des übermangansauren Kaliums nicht zu weit gegangen ist, so dass man selbst bei einer gewissen Uebung leicht des Guten zu viel thun kann. Es kommt noch dazu, dass die Entfärbung sehr rasch erfolgt, so dass der Spielraum zwischen dem undifferenzirten Zustande und dem differenzirten ein sehr kleiner ist. Ich glaube, dass auch vom ästhetischen Standpunkte aus gegenwärtig auf die Pal'sche Differenzirung verzichtet werden kann, da die oben erwähnte Färbung mit dem Eisenlack gleich schöne Bilder liefert, und zwar in sichererer Weise. — —

Kurz sei noch erwähnt, dass man auch wieder versucht hat, die Markscheiden ohne Benutzung von Farbstoffen (im eigentlichen Sinne) zur Darstellung zu bringen, also ähnlich wie das Exner seinerzeit angegeben hatte. So hat Pal [11]) eine der Exner'schen Methode entsprechende mitgetheilt, nur mit dem Unterschiede, dass er die Differenzirung nicht mit Ammoniak, sondern mit übermangansaurem Kalium und seiner Oxalsäure-Kalium sulfurosum-Mischung vornahm.

Etwas anders verfuhr Azoulay.[12]) Auch er benutzte zwar Osmiumpräparate wie Exner, und zwar theils solche, die von vornherein in Flemming-scher, Golgi'scher oder Marchi'scher Lösung gehärtet waren, theils solche, die nach Härtung in einfacher Müller'scher Flüssigkeit nachträglich osmirt wurden. Die aus diesen Präparaten gewonnenen Schnitte differenzirte er aber zunächst nicht, sondern er behandelte sie erst noch mit Tannin (in

* Diese oder eine etwas modificirte Eisenchloridhämatoxylinlösung ist auch als Kernfärbemittel etc. zu empfehlen.

der Wärme). Feine Schnitte bedürfen danach gar keiner Differenzirung, dickere aber müssen nach LUSTGARTEN-PAL behandelt werden. Statt Tannin hat AZOULAY auch die in der Photographie üblichen Reduktionsmittel, Hydrochinon, Pyrogallussäure und Eikonogen versucht. HELLER und GUMPERTZ haben übrigens von AZOULAY unabhängig ein ähnliches Verfahren für die Markscheiden der peripherischen Nerven veröffentlicht.

Weiterhin sei noch erwähnt, dass ALLERHAND [13]) die Markscheidenfärbung, beziehungsweise, wie er meint, die Färbung der KÜHNE-EWALD'schen Hornscheiden durch Eisen-Tannin zu Stande gebracht hat (also ohne Osmiumsäure). Er bringt die Schnitte aus Alkohol oder aus chromirten Präparaten in eine 50%ige Lösung des officinellen Liquor ferri sesquichlorati (unter schwacher Erwärmung) für 15—20 Minuten, dann nach kurzem Abspülen in Wasser in eine 20%ige Tanninlösung. Diese Tanninlösung muss, um gut zu färben, längere Zeit in der Wärme gestanden haben und unter Verschimmelung braun geworden sein. In dieser Tanninlösung bleiben die Schnitte 1—2 Stunden. Sie sollen dann tief geschwärzt sein. Sind sie, was namentlich bei Präparaten, die nur in Alkohol gehärtet waren, manchmal vorkommt, bei der ersten Procedur nicht genügend schwarz geworden, so wiederholt man die Procedur in abgekürzter Form noch einmal. Nach genügender Schwärzung werden die Schnitte nach dem Princip der LUSTGARTEN-PAL'schen Methode differenzirt, nur mit dem Unterschiede, dass sowohl die Lösung des Kalium hypermanganicum als die der Oxalsäure und des schwefligsauren Kaliums doppelt so stark genommen werden, als das nach der typischen PAL'schen Vorschrift der Fall sein müsste.

Endlich sei noch darauf hingewiesen, dass ausser mit Osmium und Eisen auch noch Silber zur Darstellung der Markscheiden empfohlen worden ist, und zwar von MAX MOSSE.[14]) Er beizt in MÜLLER'scher Flüssigkeit oder dergleichen, härtet (ohne Auswaschen in Wasser) in Alkohol nach, bettet in Celloidin ein und legt dann die Schnitte noch einmal in MÜLLER'sche Flüssigkeit (für 24 Stunden). Darauf werden dieselben auf 10 Minuten in eine 1—2%ige Lösung des im Handel unter dem Namen Argentamin vorkommenden Silberpräparates gethan. Dann erfolgt Abspülen in Wasser, Reduktion in einer etwa 10%igen Lösung von Pyrogallussäure, bis die Schnitte ganz schwarz werden, was in 1—2 Minuten geschieht, Abspülen in Wasser, Differenziren nach PAL etc.

Litteratur: 1) EXNER (Sitz. Akad. Wiss. Wien, Bd. 73, III. Abth.), 2) LISSAUER (Fort. Medicin, 1884), 3) WEIGERT (ebenda 1885), 4) WEIGERT (Centr. med. Wiss., 1882), 5) GUDDEN, (Neurol. Centr., 1897), 6) WEIGERT (Deutsch. med. Woch., 1891), 7) WEIGERT (Beiträge zur Kenntniss der normalen menschlichen Neuroglia, Frankfurt 1895), 8) PAL (Wien. med. Jahrb., 1886), 9) LUSTGARTEN (ebenda 1885), 10) LUSTGARTEN (Wien. med. Woch., 1885), 11) PAL (Wien. med. Jahrb. 1887), 12) AZOULAY (Anat. Anz. 1895), 13) ALLERHAND (Neurol. Centr. 1897), 14) MOSSE (Arch. mikr. Anat., Bd. 59, 1901).

WEIGERT, Frankfurt.

Nervenfaser, Neurokeratingerüst. Das von EWALD und KÜHNE zuerst dargestellte Neurokeratingerüst der markhaltigen Nervenfaser ist durch alle jene Mittel darstellbar, welche das Myelin (s. dort) lösen, und zwar kann man z. B. durch Aether-Alkohol oder Alkohol-Chloroform das Myelin in der frischen Faser lösen oder zunächst den Nerven in Osmiumsäure fixiren und dann das osmirte Myelin durch ätherische Oele, z. B. Bergamottöl, lösen.

Fixirt man einen ausgespannten Nerven in Alkohol oder in dem CARNOY'schen Gemisch und färbt dann im Stück oder Schnitt mit Hämatoxylin, Chromhämatoxylin oder Eisenhämatoxylin, so erhält man sehr prägnante Bilder des Neurokeratinnetzes.

PLATNER fixirt mehrere Tage in mit Alkohol oder Wasser 3—4fach verdünntem Liquor ferri sesquichlorati, wäscht so lange in Wasser oder

Alkohol aus, bis die Waschflüssigkeit keine Reaktion mit Rhodankalium mehr gibt und färbt dann mit Solidgrün in 95%igem Alkohol (koncentrirt) gelöst bis zu mehreren Wochen. Die Flüssigkeit selbst darf nicht grün werden. Neurokeratinnetz und Axencylinder tief grün gefärbt. GEDOELST fixirt in PERÉNYI'scher Flüssigkeit mit einer Spur Osmiumsäure oder in einer Mischung von gleichen Theilen 1%iger Osmiumsäure und absoluten Alkohols. Das Netz erscheint schwarz gefärbt. COX fixirt in 2%iger Osmiumsäure und überträgt durch Alkohol hindurch in Bergamottöl, in dem sich das osmirte Myelin löst und das Neurokeratinnetz hervortreten lässt.

CORNING fixirt in Sublimat und färbt die Schnitte mit Eisenhämatoxylin.

Ueber die Darstellung des Neurokeratinnetzes durch künstliche Verdauung vergl. Verdauung.

Litteratur: EWALD und KÜHNE (Verh. naturhist. Ver. Heidelberg, N. F. Bd. 1, 1874), PLATNER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), GEDOELST (Cellule, Bd. 3 u. 5, 1887 u. 1889), COX (Anat. Hefte, 31, 1898), CORNING (Anat. Anz., Bd. 17, 1900).

Nervenfaser, Schwann'sche Scheide. Zur Darstellung der SCHWANN'schen Scheide kann man frische Nerven mehrere Tage oder Wochen in Alaunkarmin maceriren und dann zerzupfen. Auch bei der KUPFFER-schen Methode der Fibrillenfärbung erhält man meist gute Bilder der Scheide. UPSON und KRAUSS empfehlen Fixation in Müller oder Alkohol und Färbung der Schnitte ½—12 Stunden lang in folgender Karminlösung: 1 Grm. Karmin wird mit 100 Ccm. einer 5%igen wässerigen Lösung von Rubidiumalaun 20 Minuten gekocht. nach dem Erkalten filtrirt, das Filtrat mit Zinksulfat gesättigt und wieder filtrirt. Nach der Färbung werden die Schnitte in Wasser ausgewaschen, in Alkohol entwässert und in Balsam gebracht. HUBER fixirt in 1%iger Osmiumsäure, die mit Pikrinsäure gesättigt ist, oder in HERMANN'scher Flüssigkeit 24 Stunden. Färbung der Schnitte mit Safranin-Lichtgrün nach BENDA. Es färben sich die Kerne roth, die Scheide und das Endoneurium grün. TIRELLI benutzt zur Darstellung von Fibrillenbildungen in der Scheide eine Abänderung der Golgimethode, indem er die Stücke für 1—3 Tage in 2%ige Chromsäure bringt, die in Bouillon oder Blutserum gelöst ist und der man von Zeit zu Zeit kleine Mengen 1%iger Osmiumsäure zusetzt. Nach der angegebenen Zeit überträgt man in 0,5%iges Silbernitrat. GURWITSCH empfiehlt für die Sichtbarmachung der SCHWANN'schen Scheide bei Säugerembryonen die APÁTHY'sche Methode der Nachvergoldung. Für spätere Stadien eignet sich auch Eisenhämatoxylinfärbung. S. MEYER imprägnirt die SCHWANN'sche Scheide und den Axencylinder mit Berlinerblau. indem er nicht zu kleine Stücke 24 Stunden in 10%igem Formol fixirt, dann für 8—20 Tage in 2,5%iges Ferrocyankalium und weitere 2—4 Tage in 10%igen Eisenalaun überträgt. Dann wird einige Stunden in Wasser gewaschen und in gewöhnlicher Weise in Paraffin eingebettet.

Litteratur: UPSON und KRAUSS (Neurol. Centr. 1888, Bd. 7), HUBER (Arch. mikr. Anat. 1892, Bd. 40), TIRELLI (Mon. zool. it. 1894, Jahrg. 5), GURWITSCH (Arch. Anat. 1900), S. MEYER (Anat. Anz. 1902, Bd. 10).

Nervenstrukturen in Pflanzenzellen, s. Fibrillen in Pflanzenzellen.

Nervensystem, Mikroskopische Technik der Untersuchung des gesunden und kranken centralen Nervensystems mit Ausschluss der Neurofibrillenfärbung, der Markscheidenfärbung, der Neurogliafärbung, der GOLGI-schen Methode und der vitalen Methylenblaufärbung.

Allgemeines. Die mikroskopische Anatomie des centralen Nervensystems gliedert sich *a)* in die faseranatomische Forschung und *b)* in die histologische Untersuchung.

Nur derjenige wird die mikroskopische Untersuchung des centralen Nervensystems richtig und mit Verständniss anwenden, der sich vor allem des Unterschiedes zwischen histologischer und faseranatomischer Forschung wohl bewusst ist. Selbstverständlich giebt es zwischen den beiden Gebieten keine scharfe Grenze, sondern dieselben berühren sich und gehen vielfach in einander über. Thatsächlich wurden auch die beiden Disciplinen nicht von einander geschieden; bisher wurden vielmehr diejenigen Forscher, die sich mit der Untersuchung des Faserverlaufs befassten, auch als die kompetenten Fachmänner der Histologie und in der Regel sogar auch der Histopathologie angesehen. Inzwischen hat aber die mikroskopische Anatomie des Nervensystems so gewaltige Fortschritte gemacht, dass die Histologie des Nervensystems nicht mehr blos als das Appendix der Faseranatomie gelten kann. Am klarsten tritt der Gegensatz von heute und früher in der histopathologischen Forschung zu Tage. Sowohl die Faseranatomie als auch die Histologie nimmt heute die ganze Arbeitskraft eines Forschers in Anspruch.

Erkennt auch die Wissenschaft eine scharfe Grenze zwischen dem Forschungsgebiete der Faseranatomie und der Histologie des Nervensystems nicht an, so ist damit noch nicht gesagt, dass es keine Unterschiede zwischen diesen beiden Gebieten giebt. Ueberhaupt handelt es sich hier weniger um eine wissenschaftliche, als vielmehr eminent praktische Frage. Am überzeugendsten tritt dieses Moment da zu Tage, wo beide Forschungszweige sich gegenseitig ergänzen und in einander übergehen. Denn selbst an solchen Grenzpunkten wird häufig die mikroskopische Technik je nach dem bald mehr faseranatomischen, bald mehr histologischen Charakter des Untersuchungsgegenstandes verschieden sein. Ein Faseranatom hat beispielsweise ein besonderes Interesse daran, lediglich das topographische Verhalten und die Bevölkerungsdichtigkeit der Nervenzellen einer bestimmten Schicht irgend eines Windungskomplexes der Hundehirnrinde genau zu kennen, während die Ermittlung der Bauverhältnisse im Zellleibe und im Kerne dieser Zellen gar nicht in den Rahmen der von ihm zu lösenden Aufgabe fällt. Für die Feststellung des topographischen Verhaltens und der Bevölkerungsdichtigkeit der Nervenzellen jenes Ortes kommt die Technik der elektiven Darstellung der Nervenzellen in Betracht. Es liegt nun klar auf der Hand, dass der Faseranatom, der vor allem Serienschnitte durch jene Gegend benöthigt, sich für einen andern Modus der Ausführung der genannten Technik entscheidet als ein Histologe, der sich z. B. mit der Kernstruktur derselben Nervenzellen beschäftigt.

Mikroskopische Technik der Faseranatomie.

Allgemeines.

Die Faseranatomie ist ein Theil der beschreibenden Anatomie des centralen Nervensystemes. Sie beschäftigt sich in erster Linie mit der Erforschung des anatomischen Verhaltens der markhaltigen Fasern. Ihr Ziel ist die Ermittelung von Bündelchen gleichartiger Markfasern und, soweit dieselben nicht schon durch besondere Umstände abgegrenzt sind, die Entwirrung der vereinigten oder auseinandergesprengten Fasermassen zu solchen Bündelchen, deren vollständigen Verlauf, von der Ursprungszelle bis zum Ende der Markfaser, sie im Einzelnen aufzudecken bemüht ist.

Nach dem Stande unseres heutigen Wissens kennen wir nur Markfasern, deren Axencylinderfibrillen die kontinuirliche Fortsetzung der Axencylinderfortsatzfibrillen von Nervenzellen sind. Da wir als specifisch nervöse Bestandtheile der markhaltigen Fasern nur die Neurofibrillen der Axencylinder ansehen, so stellen die Nervenzellenkörper, aus denen die

Neurofibrillen in die Nervenfortsätze ziehen und von da kontinuirlich in die Axencylinder sich fortsetzen, das eine Ende der markhaltigen Nervenfasern dar. Weniger noch wissen wir von dem entgegengesetzten Ende derselben. Verfolgen wir mit den uns heute zu Gebote stehenden technischen Hilfsmitteln die markhaltigen Nerven in den den Nervenzellen entgegengesetzen Richtungen, so gelangen wir früher oder später zu einem meist in irgend einem grauen Herde gelegenen Punkte, von wo an die markhaltigen Nervenfasern nicht mehr weiter verfolgt werden können. Wir vermögen uns leicht zu überzeugen, dass dieser Punkt übereinstimmt mit derjenigen Stelle des markhaltigen Axencylinders, an der die Markscheide, welche ihn bis dahin begleitet hat, ihr Ende findet. In welcher Weise sich die Neurofibrillen von dieser Stelle ab weiterverhalten, ist noch gänzlich unbekannt. So viel aber dürfte sicher sein, dass der Axencylinder sich über die genannte Stelle hinaus nicht einfach als »nackter Axencylinder« fortsetzt, sondern, falls die Neurofibrillen des Axencylinders in ihrer Gesammtheit thatsächlich über jene Stelle hinaus weiterziehen, irgend eine substantielle Umwandlung erleidet, welche verhindert, mit unseren färberischen Verfahren den mit der Markscheide umgebenen Axencylinder nach Verlust der letzteren noch weiterhin als sogenannten »nackten Axencylinder« auf tinktoriellem Wege sichtbar zu machen. Wir sind daher gezwungen, den Ort, wo die markhaltigen Nervenfasern ihre Markscheide abgeben, als das andere (scheinbare) Ende der markhaltigen Nervenfasern zu bezeichnen.

Der Gegenstand der faseranatomischen Forschung sind demnach markhaltige Nervenfasern, von denen wir annehmen, dass das eine Ende mit dem Nervenfortsatz einer Nervenzelle zusammenhängt, während das andere Ende nur scheinbar durch den Verlust der Markscheide gekennzeichnet ist. Die mit je einem markhaltigen Nerven zusammenhängende Nervenzelle wird von vielen Forschern die Ursprungszelle eines markhaltigen Nerven genannt. Ueber das Verhalten der Axencylinderfibrillen eines markhaltigen Nerven, die als Axencylinderfortsatzfibrillen in die Ursprungszelle eintreten, wissen wir sicher nur das eine, dass sie sich augenscheinlich von den übrigen Neurofibrillen der Ursprungszelle nicht unterscheiden und dass keine Neurofibrille der Ursprungszelle, also auch keine Axencylinderfortsatzfibrille. über die Oberfläche der Nervenzelle oder über die Oberfläche und die Spitzen ihrer Dendriten hinaus sich begiebt; zwischen der Zelloberfläche resp. der Oberfläche ihres Dendritenbaumes einerseits und andererseits zwischen dem an die Zell- resp. Dendritenoberfläche grenzenden grauen Gewebe schiebt sich das Golginetz ein.

Während wir die Axencylinder der markhaltigen Nerven mit sehr verschiedenen Verfahren sichtbar machen können, vermögen wir die Axencylinderfortsätze der Ursprungszellen bei weitem nicht so deutlich zu färben, dass sie regelmässig und sicher zu erkennen sind.

Man braucht sich nur an die Thatsache zu erinnern, dass vor der Einführung der Golgi'schen Färbung der Nachweis der Axencylinderfortsätze in der Hauptsache mit Hilfe von Isolirmethoden geführt wurde; im Schnittpräparat vermochte man die Axencylinderfortsätze nur bei bestimmten grosszelligen Nervenzellen, insbesondere bei den motorischen Nervenzellen und auch hier nur in beschränkter Anzahl zu erkennen. Etwas leichter gelang die Feststellung dieser Fortsätze bei Anwendung der Weigert'schen Markscheidentinktion, obwohl sich hier die Zellleibssubstanz gar nicht färbt. Allein irgend ein namhafter Fortschritt war damit nicht verknüpft, indem die Weigert'sche Markscheidenfärbung unter günstigen Umständen nur die Nervenfortsätze jener Nervenzellen deutlich hervortreten lässt, die man auch

schon mit den bisherigen Methoden identificiren konnte. Noch am sichersten vermag man im elektiv gefärbten Nervenzellenpräparate die Nervenfortsätze zu erkennen, falls bestimmte pathologisch-anatomische Veränderungen der Nervenzellen vorliegen. Allein damit kann man praktisch gar nichts anfangen. Ebenso ist die BETHE'sche Methode der Neurofibrillendarstellung in den Nervenzellen zur Identifizirung der Nervenfortsätze praktisch noch nicht zu verwerthen. Erstens ist die Methode zur Herstellung von Schnittserien nicht zu gebrauchen und zweitens pflegen die Neurofibrillen in den Axencylindern zusammenzukleben, ein Umstand, der die Identificirung der einzelnen Verlaufsstücke der Nervenfasern im höchsten Grade erschwert. Endlich sind noch die Verfahren der elektiven Darstellung der Axencylinder, speciell die BECKER-sche, KAPLAN'sche und FAYERSTAJN'sche Färbung zu erwähnen, allein zur Identificirung der Nervenfortsätze der Nervenzellen sind diese Methoden nicht zu gebrauchen; denn sie färben wohl die Axencylinder der markhaltigen Nerven, nicht aber die Nervenfortsätze der Nervenzellen und auch nicht die Axencylinder, nachdem sie ihre Markscheiden verloren haben.

Man muss sich darüber im klaren sein, dass die Nervenzellen mit ihren Fortsätzen allseitig scharf umgrenzte Gebilde sind, dass die Dendritensubstanz ebenso blind endigt wie die Substanz der Nervenfortsätze und dass der Unterschied zwischen letzteren und den Dendriten nur darin besteht, dass die Summe der Nervenfortsatzfibrillen die Substanz der Nervenfortsätze überschreitet, kontinuirlich weiterzieht und mit der perifibrillären Substanz der Axencylinder und den Markscheiden ein neues Element, den markhaltigen Axencylinder, bildet. Der Axencylinder der markhaltigen Nervenfasern ist nicht Nervenzellensubstanz; der Axencylinderfortsatz und der Axencylinder sind vielmehr zwei verschiedene Gebilde, welche die Nervenfortsatzfibrillen gemeinsam besitzen. Das verschiedene färberische Verhalten der Nervenfortsätze und der Axencylinder markhaltiger Nervenfasern ist lediglich der Ausdruck für die anatomische Verschiedenheit zwischen Nervenzellen, resp. zwischen dem Nervenfortsatz der Nervenzellen einerseits und dem Axencylinder der markhaltigen Fasern andererseits.

Welche Axencylinderfärbungen man daher auch anwendet, gleichviel ob man z. B. die STRÖBE'sche oder BENDA'sche, oder WOLTER'sche, oder UPSON'sche, oder VAN GIESON'sche oder die von PALADINO oder SAHLI oder die alte Kaliumbichromatkarminfärbung oder Färbungen mit Nigrosin, Anilinblue-black oder Kongoroth etc. benützt, oder ob man sich für die WEIGERT-sche Markscheidentinktion oder eine andere Methode entscheidet, das Ergebniss bleibt im grossen ganzen das gleiche, vorausgesetzt, dass man mit diesen Axencylinder- oder anderen Färbungen kontinuirlich die Axencylinder markhaltiger Nervenfasern verfolgen will: es gelingt nur in einem sehr beschränkten Grade, den kontinuirlichen Uebergang des Nervenfortsatzes der Nervenzellen in den Axencylinder der markhaltigen Nerven unzweideutig färberisch sichtbar zu machen. Am leichtesten gelingt es erfahrungsgemäss bei den motorischen Zellen, vorausgesetzt, dass der Uebergang gerade in die Schnittebene zu liegen kommt. Ferner vermag man noch bei einer Anzahl von grosszelligen Nervenzellen den Uebergang des Nervenfortsatzes in den Axencylinder des markhaltigen Nerven sichtbar zu machen, so z. B. bei gewissen grosszelligen Nervenzellen der menschlichen Hirnrinde u. s. w., und unter günstigen Umständen noch bei solchen Zellen, bei denen man auf Grund des GOLGI'schen Präparats genau die Abgangsstelle des Nervenfortsatzes kennt.

Wie dem aber auch ist, so viel steht fest, dass die Zahl derjenigen Nervenzellen, deren Nervenfortsätze man mit den heutigen Methoden in kontinuirlichem Zusammenhange mit den entsprechenden Axencylindern markhaltiger Nerven sicher und zuverlässig sichtbar zu machen im Stande ist, gegenüber den überhaupt in Betracht kommenden Nervenzellen verschwindend klein ist.

Wir unterscheiden heute bei einem markhaltigen Nerven 3 Verlaufsabschnitte: 1. die Nervenzelle mit dem Nervenfortsatz bis zu dem Punkte, an dem die Markscheide den Axencylinder umgiebt, dessen Fibrillen kontinuirlich mit den Nervenfortsatzfibrillen jener Nervenzelle zusammenhängen; 2. den von der Markscheide umhüllten Axencylinder und 3. den Verlaufsabschnitt eines markhaltigen Axencylinders, nachdem die Markscheide den Axencylinder wieder verlassen hat.

Der faseranatomischen Forschung steht also kein Verfahren zur Verfügung, mit dessen Hilfe sie die drei Verlaufsabschnitte eines markhaltigen Nerven in continuo sichtbar zu machen vermag. Ueber das Verhalten des letzten Abschnittes wissen wir überhaupt nichts. Dagegen können wir den Zusammenhang der beiden ersten Verlaufsabschnitte bei einer ausserordentlich grossen Anzahl von markhaltigen Nerven wenigstens indirekt, bei einer allerdings verschwindend kleinen Anzahl von Nerven sogar direkt ermitteln. Der eigentlichste und der Hauptgegenstand der Faseranatomie bleibt somit das mittlere Verlaufsstück der markhaltigen Nerven; soweit der Axencylinder mit Mark umgeben ist, kann er mit Hilfe von Schnittserien kontinuirlich in seinem Verlauf verfolgt werden; hier besitzt auch die Forschung eine Reihe ganz vorzüglicher technischer Hilfsmittel; obenan steht die WEIGERT'sche Methode der Markscheidenfärbung.

Unter solchen Umständen liegt es auf der Hand, dass sich der Faseranatom vielfach damit bescheiden muss, den Verlauf von Bündeln markhaltiger Fasern festgestellt zu haben. Bei einer grossen Anzahl von Markfasern reichen unsere Hilfsmittel leider nicht aus, um das Verhalten derselben nach Abgabe der Markscheide zu ermitteln, und zwar weder nach der einen, noch nach der entgegengesetzten Richtung. Wir wollen uns hier nicht auf Hypothesen einlassen, sondern lediglich Umschau über das Gebiet halten, das mit Hilfe der heutigen Technik der Erforschung zugänglich ist. Als ein vorzügliches Hilfsmittel der faseranatomischen Forschung betrachten wir die FLECHSIG'sche Methode der Markscheidenentwicklung. Es ist jedoch klar, dass diese Methode nur über den mittleren Verlaufsabschnitt jener markhaltigen Nerven Aufschluss giebt, die ungefähr um die gleiche Zeit markhaltig werden, resp. zu einer bestimmten Zeit noch nicht markhaltig sind. GOLGI und RAMÓN Y CAJAL haben auf die Seitenzweige der Axencylinder, auf die sogenannten Collateralen, aufmerksam gemacht. Bisher ist es noch nicht gelungen, in anderen als GOLGI'schen Präparaten Collateralen sichtbar zu machen. Sind aber die Collateralen wirklich mit Mark umgeben, so liegt es klar auf der Hand, dass sich uns solche Collateralen als die mittleren, mit Mark umhüllten Verlaufsabschnitte markhaltiger Nervenfasern präsentiren, über deren beide periphere Abschnitte wir ebensowenig etwas Bestimmtes zu ermitteln vermögen, als über die beiden peripheren Abschnitte der mittels der FLECHSIG'schen Methode in ihrem Verlaufe festgestellten Markfasern. Diese beiden Beispiele, denen leicht noch mehrere andere beigefügt werden können, mögen genügen, um die Sachlage klarzustellen, dass bei einer grossen Anzahl von Markfasern unsere heutigen Hilfsmittel nicht ausreichen, um das Verhalten derselben nach Abgabe der Markscheide weiter zu verfolgen, und

zwar weder nach der einen, noch nach der entgegengesetzten Richtung.

Immerhin aber bleibt noch eine gewaltige Menge markhaltiger Nervenfasern übrig, deren Ursprungszellen auf irgend einem Wege ermittelt werden können. Da die Zahl jener Fasern verschwindend klein ist, deren Axencylinder wir in continuo bis zum Axencylinderfortsatz einer Nervenzelle zu verfolgen im Stande sind, so kommt diese Methode praktisch überhaupt nicht in Betracht. Zur Feststellung der Ursprungszellen habe ich im Jahre 1894 eine Methode angegeben, welche darauf beruht, dass die Ursprungszellen eine Reihe von Veränderungen zeigen, wenn die Leitung des Nerven definitiv unterbrochen wird. Auch die von GUDDEN angegebene Methode dient nicht nur zur Verfolgung der markhaltigen Nervenbahnen, sondern auch zur Ermittlung der Ursprungszellen, resp. des grauen Herdes, in dem sich letztere befinden. Endlich benützt die faseranatomische Forschung zur Verfolgung von Faserbahnen die infolge von Blutungen, Erweichungen, Geschwülsten u. s. w. bedingten Durchtrennungen derselben und das sich hieran anschliessende Phänomen der sekundären Degeneration, wobei es unter günstigen Umständen ebenfalls gelingt, die Ursprungszellen, resp. den grauen Herd, in dem die Ursprungszellen etablirt sind, zu erkennen.

Jedenfalls ergiebt sich aus dieser Sachlage die wichtige Thatsache, dass es sich bei der faseranatomischen Forschung nicht um die Verfolgung *einzelner* markhaltiger Fasern handelt, sondern stets um eine Vielheit *gleichgerichteter Fasern*, also um ein *Faserbündel* und dementsprechend nicht um die Ursprungszelle *einer* markhaltigen Faser, sondern *stets um die zu einem Faserbündel zugehörigen Zellen*, resp. *um den grauen Centraltheil, in dem sich diese Zellen befinden*. Unter günstigen Umständen gelingt es auch, den grauen Herd zu identificiren, in dem der dritte Verlaufsabschnitt eines Bündels markhaltiger Fasern endigt. Die Voraussetzung für derartige Ermittlungen sind dieselben wie für die Feststellung des grauen Herdes, in dem die Ursprungszellen sich befinden. Die Kennzeichen solcher Herde sind mässige Atrophien der grauen Substanz und gliöse Wucherungen daselbst bei gleichzeitigem Intaktbleiben der Nervenzellen.

Der Begriff *Fasersystem* und *Systemerkrankung* ist zur Zeit noch keineswegs so klargestellt, dass die faseranatomische Forschung von dem Begriff »Fasersystem« ausgehen könnte. Man versteht darunter theils Fasergebiete, in denen sich die sekundäre Degeneration *konstant* fortzupflanzen pflegt. Man wendet diesen Begriff aber auch bei Fasergebieten an, welche stets oder doch im Beginne der Erkrankung in *konstanter* Weise von einer uns unbekannten Noxe, z. B. vom tabischen Gift, in einen der sekundären Degeneration analogen Zustand übergeführt werden. Auch FLECHSIG spricht von *Fasersystemen*, die zu einer Zeit schon markhaltig sind, wo andere noch der Markscheiden entbehren. Unter solchen Umständen haben wir nicht die Aufstellung von Fasersystemen und ihre anatomische Analyse als das Ziel der faseranatomischen Forschung bezeichnet, sondern die *Ermittlung von Bündeln gleichartiger Markfasern*. Selbstverständlich wird der Faseranatom die bisher als Fasersysteme bezeichneten Fasergebiete ebensowenig aus dem Auge verlieren wie bisher; allein als sein nächstes Ziel wird er doch die Feststellung von Bündelchen *gleichartiger* Fasern betrachten müssen. Denn nach unseren heutigen Anschauungen bedeutet die *Auflösung eines Faserkomplexes* in Bündelchen *gleichartiger Markfasern die Zerlegung des Komplexes in seine letzten, vorderhand nicht mehr weiter zerlegbaren Komponenten*. Uebrigens wird man auf Grund des Ergebnisses dieser Zerlegung am besten über den Begriff des Fasersystems und der Systemerkrankung ins klare kommen.

Nach dem heutigen Stande unseres Wissens werden wir als identische Nervenfasern solche Axencylinder markhaltiger Nerven betrachten, deren Axencylinderfibrillen kontinuirlich in die Nervenfortsatzfibrillen identischer Nervenzellen (d. h. von Nervenzellen, welche die gleiche Zellleibs- und Kernstruktur besitzen) desselben grauen Centrums sich fortsetzen und deren dritter Verlaufsabschnitt nach Abgabe der Markscheide ebenfalls in einem gleichen grauen Centrum endigt. Wir werden daher, wenn wir von Bündeln gleichartiger Fasern sprechen, stets Markfasern im Auge haben, deren mittleres Verlaufsstück ungefähr denselben Verlauf nimmt und deren Ursprungszellen nicht nur denselben Bau besitzen, sondern auch das gleiche Grau bevölkern, und deren letzter Verlaufsabschnitt entweder im gleichen Grau oder doch an einem homologen Orte endigt.

Bei der Durchtrennung einer centralen Nervenfaser haben wir niemals eine Wiederverwachsung zu gewärtigen. Wir wissen, dass die Neurofibrillen jener Axencylinder markhaltiger Fasern, welche die kontinuirliche Fortsetzung von Nervenfortsatzfibrillen einer bestimmten Nervenzelle sind, vom Zellleib der letzteren ohne Unterbrechung bis zu dem Punkte zu verfolgen sind, wo die Markscheide den Axencylinder verlässt. Das nun folgende Verlaufsstück ist nur unter besonderen Umständen als derjenige graue Herd zu ermitteln, in dem die Markfasern ihr Ende finden. Die beiden ersten Verlaufsstücke jedoch stellen in gewissem Sinne ein Ganzes, eine Einheit dar, gekennzeichnet durch die Nervenfortsatzfibrillen, die beiden Verlaufsstücken gemeinsam sind. Wird nun die Leitung der Nervenfortsatzfibrillen, resp. ihre kontinuirliche Fortsetzung irgend wo im Verlaufe der beiden Abschnitte dauernd unterbrochen, so treten längs des Verlaufes der gesammten Neurofibrillenbahn Veränderungen auf, aus denen wir den Schluss zu ziehen vermögen, dass die Neurofibrillenbahn eine dauernde Leitungsunterbrechung erlitten hat.

So sehr man auch die pathologische und experimentelle Durchtrennung der Leitungsbahnen zu faseranatomischen Zwecken benutzt hat, so sind die histopathologischen Erscheinungen, die nach der Durchtrennung der Neurofibrillenbahn in den beiden ersten Verlaufsabschnitten aufzutreten pflegen, noch lange nicht genügend bekannt. Noch am besten sind wir über das Verhalten peripherer Nerven orientirt; es ist jedoch nicht erlaubt, die bei den peripheren Nerven gemachten Erfahrungen einfach auf die centralen Nervenbahnen zu übertragen. Soviel steht fest, dass bei dem histopathologischen Vorgang nach der Durchtrennung der centralen Neurofibrillenbahn vor allem das Alter der Individuen, in zweiter Linie die Oertlichkeit und wohl auch die Art und Weise der Durchtrennung der centralen Neurofibrillenbahn in Betracht kommt. Am ausgiebigsten und auch zeitlich am schnellsten spielen sich diese Vorgänge am neugeborenen Thier ab (GUDDEN'sche Methode), wobei die Faser nach beiden Richtungen vom histopathologischen Process ergriffen wird und mit den Ursprungszellen schliesslich verschwindet. Diesem grossen Vorzug steht aber auch ein grosser Nachtheil gegenüber. Infolge dieser ausgiebigen Zerstörung der beiden Verlaufsabschnitte (an der Atrophie des grauen Herdes, in dem der dritte Verlaufsabschnitt endigt, vermag man in vielen Fällen diesen Verlaufsabschnitt bestimmt zu identificiren) treten oft kolossale Verschiebungen im Präparate ein, welche den Vergleich der gesunden mit der veränderten Seite in hohem Grade erschweren. Die Anwendung der GUDDEN'schen Methode, die in ihrer Art unübertrefflich ist, setzt vollkommene Vertrautheit mit ihren Fehlerquellen voraus. Bei jüngeren In-

dividuen vollziehen sich die Veränderungen rascher und ausgiebiger als bei älteren. Auch verschwindet nicht mehr die Neurofibrillenbahn mit ihren Adnexen, sondern es findet nur eine mehr oder weniger ausgiebige Degeneration im Bereich derselben statt. Leider sind wir hier, wenigstens zur Zeit noch, an die unseren Hilfsmitteln leichter zugänglichen Bestandtheile gebunden, vor allem an die Markscheiden, während wir jetzt erst anfangen, die wichtigsten Theile der Markfasern, die Neurofibrillen, einer genauen Analyse zu unterziehen. Es genügt, darauf hinzuweisen, dass zunächst der von der Ursprungszelle abgetrennte Verlaufsabschnitt der Markfaser der Degeneration anheimfällt, sowie dass diese Veränderung sich um so rascher vollzieht, je weiter von der Zelle entfernt die Durchtrennung stattfand. Ist die sekundäre Degeneration noch frisch, d. h. ist die Markscheide noch gerade im Zerfall begriffen, so ist die Marchi'sche Methode das geeignetste Verfahren, die degenerirenden Markfasern kenntlich zu machen. Ist aber der Process abgelaufen, d. h. sind die Markscheiden mehr weniger resorbirt, so kann man verschiedene Methoden benützen, z. B. die alte Kaliumbichromatkarminfärbung u. s. f. Obenan steht aber die Weigert'sche Methode der Markscheidenfärbung zur Feststellung der degenerirten Faserbündel. Da bei der Durchtrennung einer Neurofibrillenbahn das von der Ursprungszelle abgetrennte Verlaufsstück zunächst der Entartung verfällt und da wir mit unserer heutigen Technik vor allem den Zerfall und das Fehlen der Markscheiden nachzuweisen vermögen, so spricht man von nur aufsteigend und von nur absteigend degenerirenden Faserbündeln.

Schon die Thatsache, dass beim Neugeborenen und unter Umständen auch bei dem nur wenige Tage alten Thiere die ganze Neurofibrillenbahn mit ihren Adnexen dem Untergang anheimfällt, falls sie an einer Stelle unterbrochen wird, weist darauf hin, dass der Einfluss der dauernden Unterbrechung sich nicht nur an dem von der Nervenzelle abgetrennten Verlaufsstück geltend macht, sondern auch den mit der Ursprungszelle zusammenhängenden Abschnitt in Mitleidenschaft zieht. Seitdem ich meine Methode zur Bestimmung der Lokalisation der Nervenzellen veröffentlicht habe, hat man meine Angaben vielfach nachgeprüft und ist zu sehr verschiedenartigen, zum Theil sogar zu direkt sich widersprechenden Ergebnissen gelangt.

Es ist hier nicht der Ort, diese Frage allseitig zu beleuchten. Indess dürfte es angebracht sein, auf einige Punkte hinzuweisen. Vor allem ist zu betonen, dass die betreffenden Autoren, so viel mir wenigstens bekannt ist, sich ausschliesslich mit peripheren Nerven beschäftigt haben. Zweitens dürfen bei diesen Versuchen, ebenso wie bei den centralen Experimenten, keinerlei septische oder toxisch-septische Einflüsse das Versuchsergebniss trüben. Drittens hängt die Schnelligkeit, mit der die Veränderungen auftreten, von der Oertlichkeit der Durchtrennungsstelle ab. Viertens vermag man nur dann einen Einblick in die sich abspielenden Veränderungen der Nervenzellen zu erhalten, wenn man einigermassen das Gesammtgebiet der Ursprungszellen eines durchschnittenen motorischen Nerven (d. h. eines Nerven, dem man etwa ein 2—3 Cm. langes Stück excidirt hat) zu übersehen vermag. Letzterer Umstand ist aus verschiedenen Gründen besonders wichtig. So befinden sich niemals alle Ursprungszellen trotz des gleichen Eingriffes im gleichen Zustand; ja nicht einmal auf der Höhe der Veränderung zeigen sämmtliche Zellen dieselben Erscheinungen. Oder es bilden die Ursprungszellen des durchschnittenen Nerven, wie z. B. die des Ischiadicus, eine langgezogene Zellsäule, so dass Querschnitte durchs Rückenmark keinen genügenden Einblick verschaffen u. s. w. Mir ist kein Fall bekannt geworden, wo bei Berücksichtigung der geeigneten zeit-

lichen Verhältnisse u. s. w. nach erfolgter Durchtrennung eines motorischen Nerven die beschriebenen Veränderungen seiner Ursprungszellen nicht nachgewiesen werden konnten. Was die Ursprungszellen der centralen Nervenfasern betrifft, so sprechen alle bis jetzt gemachten Versuche dafür, dass beim erwachsenen Thier nach erfolgter Durchtrennung centraler Markfasern dieselben Ursprungszellen sich verändern, welche beim neugeborenen Thier (GUDDEN'sche Methode) nach dem gleichen Eingriff verschwinden.

Vor allem muss der Faseranatom die Grenzen der Leistungsfähigkeit der ihm zu Gebote stehenden Hilfsmittel genau kennen. Einwandfreie Ergebnisse sind zur Zeit nur mit Hilfe des Experimentes und unter gewissen Voraussetzungen bei der durch pathologisch-anatomische Processe bedingten sekundären Degeneration zu erhalten. Auch bei Anwendung sämmtlicher Hilfsmittel vermag er nur Markfaserkomplexe zu entwirren und den Verlauf der einzelnen Faserbündel genau festzustellen; ist es ihm ausserdem gelungen, die beiden grauen Centren zu ermitteln, welche durch eine Vielheit gleichverlaufender Markfasern mit einander verknüpft werden, und vermag er die Ursprungszellen, sowie das Endgrau, in dem die Fasern ihre Markscheiden verlieren, sicher zu identificiren, so ist er an der Grenze seiner Leistungsfähigkeit angelangt. Es ist also heute auf anatomisch-experimentellem Wege noch nicht möglich, in unwiderleglicher Weise das zweite Glied einer zweigliedrigen Bahn zu ermitteln. Denn es giebt kein Hilfsmittel, welches dem Faseranatomen gestattet, die im Endgrau eines Faserbündels etablirten Ursprungszellen eines anderen Faserbündels bestimmt als die Ursprungszellen des zweiten Gliedes einer Faserbahn zu erkennen, deren erstes Glied die Markscheiden im gleichen Grau verliert. Damit muss sich die Faseranatomie zur Zeit bescheiden. Die von v. MONAKOW als sekundäre Atrophien zweiter Ordnung beschriebenen Veränderungen sind objektiv als sogenannte indirekte Atrophien (= Atrophien über das Grau der Ursprungszellen und das Endgrau hinaus) aufzufassen, über welche ein abschliessendes Urtheil noch nicht abgegeben werden kann.

Specielles.

Was die jeweilige Wahl der Untersuchungshilfsmittel betrifft, so ist hier ausschliesslich der Gegenstand der Forschung und das Ziel derselben entscheidend. Aus der allgemeinen Erörterung geht hervor, dass man nur in den seltensten Fällen mit einer einzigen Methode auskommen wird. Ueberhaupt kann sich der Faseranatom gar nicht oft genug den Satz einprägen, dass bei der Schwierigkeit seiner Aufgaben deren Angriffnahme von verschiedenen Gesichtspunkten und mit Hilfe möglichst differenter technischer Verfahren die beste Garantie für deren richtige Lösung gewährt.

Bei gewissen technischen Verfahren wäre es geradezu ein Kunstfehler, wenn der Faseranatom sich mit ihren Ergebnissen allein begnügen würde. Nichts wäre aber irriger, als daraus den Schluss zu ziehen, dass diese Verfahren nur Methoden untergeordneten Ranges sind; das gerade Gegentheil ist thatsächlich der Fall. Für die Faseranatomie sind diese Methoden bis jetzt unersetzlich. Hierher gehören namentlich zwei Verfahren, die noch nicht sehr lange bekannt sind, nämlich die GOLGI'sche Methode der Silberimprägnirung und zweitens die MARCHI'sche Methode. Unter Umständen kann die Faseranatomie auch von der EHRLICH'schen Methode der Methylenblauinjektion vorzüglich Gebrauch machen. Da aber diese Methode nur unter beschränkten Umständen und ungefähr unter den gleichen Voraussetzungen zu benützen ist wie die GOLGI'sche Methode, so begnügen wir uns mit diesem Hinweise.

Unter den technischen Verfahren, welche der faseranatomischen Forschung zur Verfügung stehen, nimmt die Golgi'sche Methode in jeder Hinsicht eine Ausnahmestellung ein. Die Ergebnisse des Golgi'schen Präparates, die ich als bekannt voraussetze, sind daher mit den mikroskopischen Bildern der übrigen faseranatomischen Methoden nicht direkt vergleichbar. Deswegen jedoch wird die faseranatomische Forschung nicht auf ein Verfahren verzichten, das im gewissen Sinne alle übrigen Methoden der Faseranatomie weit übertrifft.

Die Golgi'sche Methode verdankt ihre hohe Bedeutung einer uns räthselhaft erscheinenden und darum als Launenhaftigkeit dieser Methode bezeichneten Eigenschaft. Infolge dieser Eigenschaft gelangen nicht selten Nervenzellen mit Nervenfortsatz und Axencylinder auf weite Strecken in continuo isolirt zur Darstellung. In anderen Fällen ist es allerdings nicht die gesammte Neurofibrillenbahn, welche isolirt sichtbar zutage tritt; unter Umständen können aber auch solche Bilder der Faseranatomie von Nutzen sein. Wenn man sich die Eigenschaften der Golgi'schen Methode klar macht, so ergiebt sich aus denselben die Hauptindikation ihrer Anwendung. Das Golgi'sche Verfahren wird sich da am besten bewähren, wo alle anderen faseranatomischen Methoden im Stiche lassen. Ein Beispiel wird diese wichtigste Indikation ohne weiteres verständlich machen. Bei einer faseranatomischen Untersuchung ist es gelungen, aus einem grösseren Faserkomplex ein Bündel von relativ dicken Markfasern abzugrenzen und dasselbe geschlossen auf eine kurze Strecke hin zu verfolgen, worauf die Fasern desselben auseinanderweichen und sich im Gewebe verlieren. Obschon man das Bündel durch Hinwegnahme eines bestimmten Gebietes oder durch eine entsprechende Durchschneidung atrophisch zu machen imstande ist, so gelingt es doch nicht, den Gesammtverlauf dieses Bündels aufzudecken. Auch die Anwendung der allerverschiedensten Methoden förderte nicht die Kenntniss des Verlaufes dieses Bündels, dessen Konstanz in der ganzen Thierreihe nachgewiesen werden konnte. In einem solchen Falle, wo alle unsere Methoden versagen, kann unter Umständen ein einziges Golgi'sches Präparat, in dem »zufällig« die gesammte Neurofibrillenbahn eines oder auch mehrerer sicher zu diesem Bündel gehöriger Nerven isolirt in continuo sichtbar ist, dem Faseranatomen den wichtigen Verlauf der Fasern, ihre Ursprungszellen und das Grau zeigen, in dem der dritte Verlaufsabschnitt endigt. Es wäre aber unwissenschaftlich, es damit bewenden zu lassen und zu behaupten, dass der Verlauf des Bündels vollkommen aufgeklärt ist. Im Gegentheil ist es die Aufgabe des Faseranatomen, der durch das Ergebniss der Golgi'schen Methode auf die richtige Fährte gebracht wurde, nunmehr mittels der übrigen faseranatomischen Methoden die Fährte zu verfolgen und mit ihrer Hilfe den Verlauf des Bündels endgiltig zu ermitteln.

Dieses Beispiel zeigt uns deutlich die hohe Bedeutung der Golgischen Methode für die faseranatomische Forschung. Ihre Ergebnisse werden unter Umständen nicht nur da zum Ziele führen, wo alle anderen Methoden versagen, sondern sie werden auch den Faseranatomen zu neuen Fragestellungen anregen und ihn veranlassen, den bereits ermittelten Verlauf von Faserbündeln nachzukontroliren und zuzusehen, ob die ermittelten Bündel in Wirklichkeit einheitliche Faserbündel darstellen. Die Golgi'sche Methode nimmt also in jeder Hinsicht eine Ausnahmestellung unter den faseranatomischen Verfahren ein. Niemals aber darf der Faseranatom die mittels dieser hervorragenden Methode an einer oder an einigen wenigen Neurofibrillenbahnen erhaltenen Resultate bereits als endgiltige, wissenschaftlich erwiesene Forschungsergebnisse betrachten.

In einem gewissen Sinne gilt das, was von den Bildern der GOLGI'schen Methode gesagt wurde, auch für die Ergebnisse der MARCHI'schen Methode, die unter Umständen in ganz ähnlicher Weise wie das GOLGI'sche Verfahren den Faseranatomen auf die richtige Fährte zu führen imstande ist. Bei der Beurtheilung der Ergebnisse der MARCHI'schen Methode kommt es vollständig auf die jeweilige Sachlage an. Handelt es sich um geschlossene Faserbündel, so sind grobe Irrthümer weniger zu befürchten. Allein der hohe Werth der MARCHI'schen Reaktion besteht vor allem darin, dass sie vermöge ihres eminent elektiven Charakters auch einzelne zerstreut durchs Gewebe ziehende Markfasern sichtbar macht. Erinnern wir uns an unser Beispiel, so wäre es z. B. denkbar, dass die isolirte Durchschneidung jenes Bündels gelingt, ohne dass man mit Hilfe der gewöhnlichen Methoden auch nur einen Schritt vorwärts gelangt. Weichen nämlich die bis zu einem gewissen Punkt geschlossen einherziehenden Fasern auseinander und verlaufen nun mit fremden Fasern gemischt, so ist es ausgeschlossen, bei Anwendung der WEIGERT'schen Färbung eine relativ kleine Zahl solcher Fasern zu erkennen. Dagegen ist es sehr wohl möglich, dieselben im MARCHI'schen Präparate noch eine beträchtliche Strecke weiter zu verfolgen. Allein diese Methode ist gewissermassen ein zweischneidiges Schwert. Ich erinnere nur daran, dass die geschwärzten Markscheidenprodukte nicht im Gewebe an Ort und Stelle, wo sie entstanden sind, verharren, sondern fortgeschleppt und resorbirt werden. Leider sind wir über die histologischen Vorgänge, welche die MARCHI'sche Reaktion ermöglichen. noch lange nicht genügend aufgeklärt. Dazu kommt, dass wir im centralen Nervensystem immer mehr durchschneiden, bezw. exstirpiren, als wir beabsichtigen, was übrigens auch für die Folgen von Zerstörungen des centralen Gewebes durch pathologisch-anatomische Processe gilt. Kurz die Gefahren einer groben Täuschung sind da am grössten, wo die MARCHI'sche Methode sich als werthvollstes Untersuchungshilfsmittel der faseranatomischen Forschung erweist. Ich hätte vielleicht klarere Beispiele zur Beleuchtung der Sachlage wählen können, immerhin zeigt das nun einmal benutzte Beispiel deutlich genug die Vorzüge und die Gefahren der MARCHI-schen Methode.

Man soll es sich daher zur Regel machen, die Ergebnisse der MARCHI-schen Methode da, wo die anderen faseranatomischen Methoden uns im Stiche lassen, und wo sie allein die Kenntniss des Verlaufes von Markfasern zu fördern imstande ist, niemals als endgiltige Untersuchungsergebnisse anzusehen; ist man daher mit Hilfe der MARCHI'schen Methode auf den richtigen Weg geführt worden, so ist es die Aufgabe des Faseranatomen, mit Hilfe der übrigen faseranatomischen Verfahren festzustellen, ob der angezeigte Weg auch wirklich der richtige Weg ist.

In jenen Fällen, wo die MARCHI'sche Methode allein zu zweifellos sicheren Ergebnissen führt, wird man in der Regel auch mit den übrigen faseranatomischen Verfahren zustande kommen.

Wollte man eine vollständige Darstellung der mikroskopischen Technik der Faseranatomie geben, so müssten selbstverständlich auch die Beziehungen dargelegt werden, die zwischen der mikroskopischen Technik und anderen Hilfsmitteln der faseranatomischen Forschung bestehen.

In erster Linie würde hier zu nennen sein die bildliche Reproduktion der faseranatomischen Forschungsergebnisse, die Verwerthung der mikroskopischen Bilder zur Projektion, die Mikrophotographie, das direkte Kopierverfahren von mikroskopischen Schnitten. Die Methoden der plastischen Rekonstruktion haben allerdings bisher so gut wie keinen Eingang in die faseranatomische Forschung gefunden. Allein dieses Verfahren ist noch

relativ jung. Wer sich jemals von der Anschaulichkeit der auf diese Weise gewonnenen Modelle überzeugt hat, wird nicht zweifeln, dass dieses Verfahren speciell in der Faseranatomie eine Zukunft hat. Dann wird auch die Technik des Abfaserungsverfahrens und die Konservirungsmethoden solcher Präparate einen Aufschwung erfahren.

Zu der Technik der faseranatomischen Untersuchungsmethoden gehört ohne Frage auch die experimentelle Vorbereitung des centralen Gewebes. Allerdings steht dieselbe nur in sehr lockerer Beziehung zu der mikroskopischen Technik; allein wenn man der Sache auf den Grund geht, so giebt es doch auch hier eine Reihe von Berührungspunkten; ich will nur auf die zeitlichen Umstände hinweisen, auf die jeweilig zweckmässigste Zergliederung eines experimentell vorbereiteten Gehirnes und die Wahl der Schnittebenen und der Methode, auf die unerwarteten Befunde und die in diesem Falle einzuschlagende Technik, auf die Berücksichtigung des Umstandes, dass die Färbung in der Medulla leicht gelingt, während man bei der Bearbeitung der Rinde und der grossen Ganglien vielfach mit färberischen Misserfolgen zu kämpfen hat, ohne dass die Gründe bekannt sind, auf die Unterschiede zwischen den einzelnen Verfahren, die eine experimentelle Vorbereitung erheischen (GUDDEN'sche, MARCHI'sche, NISSL'sche Methode, Methode der sekundären Degeneration) u. s. f.

Ferner gehört hierher die Erörterung der zweckmässigsten Sektionsverfahren der menschlichen und thierischen Gehirne, namentlich mit Rücksicht auf die Gewinnung lückenloser Schnittserien.

Ein wichtiges Kapitel für sich bildet die Darstellung der Technik bei Anwendung der FLECHSIG'schen Methode sowohl mit Rücksicht auf thierisches, wie auf menschliches Material. Im Anschluss daran ist die Technik der Untersuchung der Markfasern im polarisirten Lichte zu erörtern.

So dankenswerth es auch wäre, alle diese technischen Hilfsmittel der Faseranatomie im einzelnen darzulegen — ich erinnere nur daran, dass der einzelne Forscher sich diese unzähligen technischen Kenntnisse in der Regel als Autodidakt anzueignen gezwungen ist —, so würden diese Ausführungen viel zu viel Raum beanspruchen. Auch müssten die einzelnen Punkte von einem Forscher behandelt werden, der die einschlägige Technik im wahren Sinne des Wortes beherrscht.

Von besonderer Wichtigkeit für die faseranatomische Forschung ist die Herstellung fortlaufender lückenloser Schnittserien. Da wohl in der Mehrzahl der Fälle die WEIGERT'sche Markscheidenfärbung in Anwendung gelangt, für die WEIGERT sein ingeniöses Verfahren der Herstellung von Schnittserien erfunden hat, so sind hier nur jene Verfahren in Betracht zu ziehen, bei denen die WEIGERT'sche Methode der Schnittserien nicht Anwendung finden kann. Speciell gilt das von der Technik der Herstellung fortlaufender Serien durch das ganze menschliche Gehirn oder durch eine Hemisphäre desselben, resp. durch entsprechend grosse Thiergehirne. Da hierbei auch noch andere Schwierigkeiten zu überwinden sind, so empfiehlt es sich, hierauf etwas näher einzugehen. FLATAU hat im Jahre 1897 ein Verfahren beschrieben, nach dem er Serienlängsschnitte durch das ganze Rückenmark anlegte (Anat. Anz. 1897).

Vor allem ist zu betonen, dass für die Herstellung so grosser Schnitte das alte GUDDEN'sche Mikrotommodell noch immer verwendbar ist. Es braucht wohl nicht eigens darauf hingewiesen zu werden, dass die mechanische Schnittführung der grossen Mikrotommodelle nach JUNG, REICHERT und BECKER im allgemeinen technisch vollendetere Schnitte liefert als das GUDDEN'sche Mikrotom, und dass man schliesslich mit Hilfe der ersteren selbst von minder gut erhärtetem Gewebe noch Schnitte erhält, allein bei

einiger manueller Geschicklichkeit thut das GUDDEN'sche Mikrotom bei so grossen Schnitten sehr wohl noch seine Dienste.

Will man eine gute und brauchbare Schnittserie durch ein ganzes menschliches Gehirn, resp. entsprechend grosse Theile erhalten, so kommt alles auf die gute schnittfähige Konsistenz des Gewebes an. Man kann zur Noth auch weniger gut erhärtete Gewebsstücke noch in Schnittserien zerlegen; es giebt eine Reihe von Kunstgriffen, welche das Bröckeln und Zerreissen verhindern; allein wenn man die genügende Sorgfalt auf die Erhärtung verwendet, so sind dieselben überflüssig. Die auf die Erhärtung der Gewebe verwendete Sorgfalt trägt in jeder Hinsicht reichliche Zinsen.

Früher wurden dergleichen grosse Schnitte mit Karmin gefärbt; heute wendet man fast allgemein die WEIGERT'sche Methode der Markscheidenfärbung an. Was die Behauptung anlangt, dass die frühere Karminfärbung deshalb nicht mehr zu erzielen sei, weil das käufliche Karmin sich geändert habe, so ist dieselbe irrthümlich. Man erzielt mit jeder guten Lösung von ammoniakalischem Karmin dieselben distinkten Färbungen wie früher, vorausgesetzt, dass man in derselben Weise wie früher die Präparate vorbehandelt, schneidet und färbt; die Präparate werden mit Kaliumbichromatlösung (ohne Formol) langsam erhärtet, sodann kurze Zeit in Wasser übergeführt und schliesslich aus dem Wasser heraus uneingebettet unter Wasser geschnitten. Aus dem Wasser wird der Schnitt in eine Schale mit Wasser gebracht, dem einige Tropfen von Ammoniakkarmin beigefügt wurden, so dass die Farblösung mit Wasser verdünntem Rothwein ähnlich ist. Da sich die Schnitte hier nicht überfärben, verbleiben sie so lange, bis sie sich maximal mit Farbe imbibirt haben; hierauf werden sie auf 24 Stunden in eine Schale voll Wasser übergeführt, das mit Essig nur minimal angesäuert ist. Sodann Alkohol, Oel, Balsam. Will man also die schöne alte distinkte Karminfärbung erhalten, so darf das Präparat vor der Färbung überhaupt nicht mit Alkohol in Verbindung gebracht werden. Will man kleinere Schnitte mit Ammoniakkarmin färben und hat nur ein Schlittenmikrotom zur Verfügung, so klebt man die Präparate mit Siegellack auf Kork auf, spannt den Kork ein und schneidet das uneingebettete Präparat, indem man das Messer mit Wasser befeuchtet. Da aber das Wasser stets auf einen Tropfen zusammenfliesst, so wendet man den kleinen Kunstgriff an, dem Wasser etwas Seife zuzufügen, und bringt den uneingebetteten Schnitt mit dem Pinsel in eine Schale reinen Wassers.

GUDDEN stellte zwanzig bis dreissig grosse Porzellanschalen oder -Teller auf und sammelte die Schnitte in der Weise, dass bei 20 Schalen die 1. Schale den 1., 21., 41. Schnitt, die 14. Schale den 14., 34. und 54. Schnitt u. s. w. enthielt. Diese Methode bleibt für alle Verfahren, bei denen die Präparate uneingebettet geschnitten werden, resp. bei denen die Einbettung keine guten Ergebnisse zutage fördert, die zweckmässigste Methode der Schnittserienherstellung. So weit auseinander liegende Schnitte sind meist ohne Schwierigkeiten auseinander zu halten.

Will man eine vollständige Schnittserie durch ein menschliches Gehirn oder durch eine ganze Hemisphäre erhalten, wobei das Präparat schliesslich eingebettet wird, so bereitet die Erhaltung der äusseren Form einige Schwierigkeiten.* Zerlegt man bei der Sektion das Gehirn oder bringt es auch in toto in die Erhärtungsflüssigkeit, so entstehen leicht allerhand Difformitäten des Organes. Es hat sich als besonders zweckmässig eine rasche Anhärtung des Gehirns erwiesen, wobei nach Möglichkeit jedes Aufliegen, auch das Auf-

* Bei dieser Darstellung verdanke ich die wichtigsten Angaben dem freundlichen Entgegenkommen des Herrn Dr. P. SCHROEDER, welcher sich speciell mit der Herstellung von Schnittserien durch die ganze menschliche Hemisphäre beschäftigt hat.

liegen auf Watte, vermieden werden soll. Ferner hat die Erfahrung gelehrt, dass man möglichst frisch das Gehirn einlegen soll; wenn irgend möglich wähle man auch nicht Organe von Individuen, die sehr lange in der Agonie lagen.

Zum Zwecke des raschen Anhärtens füge man 100 Grm. MÜLLER'scher Lösung 3,0 Formol bei und gebe so viel Glycerin zu, dass das Gehirn gerade schwimmt. In diese Lösung wird also das unversehrte Gehirn sofort überführt. Gewöhnlich genügen bei sehr grossen Flüssigkeitsmengen und oftmaligem Wechseln derselben einige Tage zum Anhärten. Hierauf kommt es in reine MÜLLER'sche Lösung, eventuell auch in die entsprechende Lösung von Kalium bichromicum. Formol wird von nun an weggelassen. Allerdings sind hier die Meinungen getheilt. Ich ziehe mit anderen die langsame Erhärtung des Gewebes in Kaliumbichromatlösung ohne jeden Formolzusatz allen übrigen Verfahren vor und habe den Eindruck, dass die Färbung ohne Formoleinfluss viel brillanter wird. Der anfängliche Zusatz von Formol ist aber dringend geboten, und zwar nicht nur wegen der Konservirung der äusseren Form, sondern vor allem auch deshalb, weil auf diese Weise dem Faulen im Inneren des Gehirns entgegengearbeitet wird. Will man namentlich ein ganzes menschliches Gehirn in Kaliumbichromatlösung erhärten, so fault dasselbe im Inneren mit grösster Gewissheit, wenn man nicht Formol anfangs der Lösung beigefügt hat.

Ist nach einigen Tagen das unversehrte Organ genügend angehärtet, so entfernt man alle jene Theile, die nicht in Serienschnitte zerlegt werden. Wird also nur eine Hemisphäre geschnitten, so entfernt man jetzt die andere; werden nur bestimmte Theile einer Hemisphäre in Serien zerlegt, so schneidet man die übrigen Gebiete ab u. s. f. Jedenfalls bedeutet jeder Schnitt ein erheblich erleichtertes Eindringen der Härtungsflüssigkeit ins Innere des Gewebes. Um diese Zeit muss man auch daran denken, die Pia vollständig von der Oberfläche des Gehirns zu entfernen. In den ersten Tagen der Konservirung zerrt man die Windungen zu sehr auseinander; späterhin ist aber die Pia nur mehr unter Verlust von Gewebe zu entfernen. Jedenfalls aber muss die Pia abgezogen werden, wenn man schöne Schnitte erhalten will. Auch die Plexus und Arterien sind sorgfältig zu entfernen.

Die allergrösste Aufmerksamkeit hat man der Erhärtung des Gewebes zu schenken. Je mehr Flüssigkeit man benützt, je öfters man sie wechselt, um so besser wird die Konsistenz werden. Jedenfalls wechselt man in der ersten Zeit täglich die Flüssigkeit und setzt dies um so länger fort, je grösser die Gewebstheile sind. Jegliche Beschleunigung der Erhärtung ist bei so grossen Gewebstheilen direkt zu unterlassen. Niemals darf ein Wärmeofen benützt werden; eine gleichmässig kühle Temperatur giebt die besten Resultate. Späterhin wechselt man alle zwei, dann drei, dann vier u. s. w. Tage die Flüssigkeit. Für eine Hemisphäre rechnet man im Durchschnitt 8—9 Monate Erhärtungszeit.

Oft ist es zweckmässig, die Präparate in kleinere Blöcke zu zerlegen. Den grossen Vortheilen einer solchen Zerlegung stehen ebenso grosse Nachtheile gegenüber. Durch die Zerlegung eines Gehirns oder einer Hemisphäre in einige wenige Blöcke gehen natürlich eine Menge von Schnitten verloren; auf der anderen Seite ist die Behandlung mehrerer kleinerer Blöcke viel leichter und die Ergebnisse zuverlässiger. Entscheidend für den einzuschlagenden Weg ist natürlich in erster Linie die zu lösende faseranatomische Aufgabe, dann aber kommt in Betracht die Bauart des jeweiligen Mikrotoms, das anzuwendende Verfahren u. s. f.

Früher, als man mit Ammoniakkarmin tingirte, wurde das Gehirn oder die Hemisphäre, nachdem die beste Konsistenz erreicht war, einige Tage in Wasser verbracht und vom Wasser direkt nach den Regeln GUDDEN's im Cylinder seines Mikrotoms fixirt (siehe gesammelte und hinterlassene Abhand-

lungen, pag. 139), sodann das Gewebe unter Wasser geschnitten und die 50—60 μ dicken Schnitte mit flachen Tellern oder Schalen unter Wasser aufgefangen und in denselben auch weiter behandelt. Kleinere Schnitte wurden mit einem feinen Drahtnetz aufgefischt und in die erwähnte Schale übertragen.

Hat man sich entschlossen, das ganze Gehirn oder eine Hemisphäre in mehrere kleinere Blöcke zu zerlegen, so ist dabei zu berücksichtigen, dass um so weniger Schnitte verloren gehen werden, je weniger Blöcke man macht, je mehr die Schnittfläche der Blöcke der späteren Mikrotomschnittfläche entspricht und je geringer die Veränderungen sind, die sich im Blocke noch während seiner Erhärtung abspielen. Man wird also vor allem einen Zeitpunkt wählen, zu welchem die Formveränderungen möglichst passend sind. Es ist daher zweckmässig, den Zeitpunkt des Konsistenzmaximums abzuwarten und erst dann die Zertheilung in Blöcke vorzunehmen.

Am besten erfolgt diese Zertheilung auf mechanischem Wege. In jüngster Zeit wurden Apparate konstruirt, mit welchen man ein Gehirn in verschieden dicke planparallele Scheiben zerlegen kann. Man braucht aber gar keine besonderen Apparate hierzu, sondern erreicht dasselbe Ergebniss auf folgende Weise: das Gehirn oder die Hemisphäre wird in einer Cigarrenkiste in die gewünschte Lage verbracht und in derselben mit niedrig schmelzendem Paraffin fixirt. Nun ist es nicht schwer, mit Hilfe einer feststehenden Führung zwischen zwei Bügeln die ganze Kiste sammt Inhalt in die gewünschten planparallelen Blöcke mittels einer Drahtsäge zu zerlegen. Mit warmem Wasser vermag man leicht das Paraffin von den Blöcken zu entfernen. Selbstverständlich kann man die gewünschten Blöcke auch auf andere Weise erhalten.

Sehr schwer ist es, bestimmt zu sagen, wann das Gewebe die beste Konsistenz zum Schneiden besitzt. Diese Kenntniss ist in erster Linie Erfahrungssache. Im allgemeinen ist ein Gehirn oder eine Hemisphäre dann erhärtet, wenn das Gewebe das Konsistenzmaximum darbietet, *dabei aber sich durchaus elastisch und ja nicht spröde anfühlt.*

Ist das Konsistenzmaximum des Gewebes erreicht, so wird es *direkt* aus der Chromsalzlösung in 80%igen, dann in 96%igen, hierauf in absoluten Alkohol und von da zunächst in dünnes und sodann in dickes Celloidin übergeführt. Die Celloidinirung so grosser Gewebsstücke muss natürlich ganz besonders sorgfältig überwacht werden und dauert ungleich länger als die Celloidineinbettung kleiner Gewebstheile. Bei der Celloidinirung tritt der Nutzen der Zerkleinerung der Gehirne in mehrere Blöcke klar zutage. Eine tadellose Celloidineinbettung ganzer, unzertheilter Gehirne giebt es wohl nicht. Die Alkoholbehandlung findet im Dunkeln statt; sobald der Alkohol trübe geworden ist, erneuert man ihn durch entsprechend percentigen frischen Alkohol.

Manchmal erhält man keine brauchbaren Schnitte, obwohl die Konsistenz des Gewebes, das Messer u. s. w. tadellos ist. In einem Falle war die aus Stabilit hergestellte Tischplatte des Mikrotoms nicht genügend unnachgiebig. Solche Fälle werden aber verhältnissmässig selten beobachtet. In der Regel werden die Gewebsstücke nicht mit der genügenden Sorgfalt auf die Tischplatte aufgeklebt. Welche Rolle die absolute Unnachgiebigkeit des Gewebsblockes beim Schneiden spielt, weiss jeder Mikroskopiker. Bei der Herstellung grosser Schnitte ist es nicht anders; daher sind auch Tische aus Stabilit allein nicht empfehlenswerth; am besten haben sich Metalltische bewährt. Beim Aufkleben kommt es vor allem darauf an, vollkommen plane Aufklebungsflächen zu erhalten. Sehr gut hat sich die Herstellung der Aufklebefläche mit Hilfe des Mikrotommessers bewährt. Man verbringt das aufzuklebende Gewebsstück in eine Cigarrenkiste und fixirt es darin mit Paraffin.

aber so, dass die Aufklebefläche etwas über das Niveau des Kästchens hervorragt. Nun kann man das ganze Kistchen in die Mikrotomklammer einspannen und mit dem Mikrotommesser selbst eine plane Aufklebefläche schaffen.

Schnitte, die auf diese Weise aus gut schnittfähigem Material gewonnen wurden, bedürfen keiner besonderen Kunstgriffe. Man verbringt sie am einfachsten mit den Fingern von einer Lösung in die andere. Bei sehr grossen Schnitten wendet man das ursprünglich von WEIGERT selbst angegebene Färbeverfahren an. Für die Hemisphären giebt auch die PAL'sche Modifikation der WEIGERT'schen Methode gute Resultate. Mit Rücksicht auf die photographische Reproduktion von mikroskopischen Bildern aus der Hemisphärenwand verdient sogar die PAL'sche Modifikation den Vorzug. Die von Einigen für grosse Schnitte empfohlenen Glimmerplatten sind unter allen Umständen zu verwerfen. Bei grossen Schnitten ist es im Gegentheil zweckmässig, wenn die Deckgläser besonders schwer sind; die Schnitte breiten sich unter schweren Deckgläsern viel leichter flach aus.

Die wichtigsten Verfahren der Faseranatomie.

1. Lückenlose Schnittserien durch normales Nervengewebe (durch ganze Gehirne oder bestimmte Theile) in den drei Hauptebenen. Färbung: WEIGERT'sche Markscheidenfärbung. — Nicht elektives Verfahren: Färbung mit Ammoniakkarmin nach Vorschrift der alten Autoren u. s. w.

2. Vergleichend-anatomische Untersuchungen mittels lückenloser Schnittserien durch normales Nervengewebe verschiedener Thiere und Thierklassen. Die Schnittserien betreffen stets dieselben, resp. homologe Gebiete des Nervensystems. Technik wie bei 1.

3. Verfahren der faseranatomischen Forschung, denen die Erfahrungsthatsache zugrunde liegt, dass die dauernde Leitungsunterbrechung einer Neurofibrillenbahn zu gewissen Folgeerscheinungen in ihren Adnexen führt. Da man letztere sichtbar machen kann, so gelingt es auf diese Weise, den Verlauf der Neurofibrillenbahnen wenigstens zum Theil zu ermitteln; bis jetzt wird systematisch zur Untersuchung benützt: 1. der gesammte Ausfall der Neurofibrillenbahnen mit ihren Adnexen, 2. die Veränderungen, die sich an den Markscheiden der Axencylinder der Neurofibrillenbahnen entwickeln, 3. die Veränderungen, welche die Nervenzellen darbieten, wenn die kontinuirliche Fortsetzung ihrer Nervenfortsatzfibrillen im Axencylinder dauernd unterbrochen ist, 4. Veränderungen in umschriebenen grauen Herden, in denen das letzte Verlaufsstück einer Vielheit von durchtrennten Neurofibrillenbahnen eintaucht, und welche an der sich entwickelnden Atrophie solcher Herde, sowie an der gleichzeitig auftretenden Gliavermehrung zu erkennen sind, während die Nervenzellen des Herdes keine Veränderung darbieten, wohl aber unter Umständen infolge der Atrophie der grauen Substanz näher aneinander rücken, 5. Veränderungen in umschriebenen grauen Herden, in denen sich eine Vielheit von Nervenzellen befindet, deren Nervenfortsatzfibrillen, d. h. deren kontinuirliche Fortsetzungen in den Axencylindern dauernd in ihrer Kontinuität unterbrochen sind. Diese Veränderungen sind am Ausfall von Nervenzellen zu erkennen. Die faseranatomischen Verfahren, die sich auf diese Thatsachen gründen, sind:

a) Die GUDDEN'sche Methode, bei der womöglich neugeborene oder doch nur wenige Tage alte Thiere experimentell vorbereitet werden. Die ganze Neurofibrillenbahn mitsammt ihren Adnexen (also Nervenzelle — der mit dem Nervenfortsatz kontinuirlich zusammenhängende markhaltige Axencylinder — der letzte uns nicht näher bekannte dritte Verlaufsabschnitt der Neurofibrillenbahn, welcher an der Stelle beginnt, wo die Mark-

scheide des zweiten Verlaufsabschnittes endigt) geht zugrunde und wird resorbirt. So vorzüglich diese Methode ist, so stören doch andererseits die infolge des Ausfalles auftretenden Gewebsverschiebungen, die bei der beim neugeborenen Thier ungemein mächtigen Wachsthumsenergie um so grösser sind, je mehr funktionirende Substanz zur Resorption gelangt ist. Das Thier wird im halb oder ganz erwachsenen Zustand getödtet und die entsprechenden Gebiete auf Serienschnitten durch verschiedene Ebenen untersucht. Sind die grauen Herde, in denen die Ursprungszellen der durchtrennten Vielheit gleichverlaufender Neurofibrillenbahnen sich befinden, sowie jene Centraltheile, in denen der dritte Verlaufsabschnitt einstrahlt, scharf umschriebene Gebiete, so sind unter Umständen auch diese beiden grauen Centren zu ermitteln. Als Färbemethoden kommen in erster Linie in Betracht die WEIGERT'sche Methode der Markscheidenfärbung und zweitens die Färbung des nervösen Gewebes mit der alten Karminammoniakmethode. Unter Umständen giebt auch meine Methode der elektiven Darstellungder Nervenzellen brauchbare Resultate.

b) Die Methoden der sogenannten sekundären Degeneration. Diese Methoden unterscheiden sich von der GUDDEN'schen Methode dadurch, dass die Unterbrechung der Neurofibrillenbahnen stattfindet, wenn das Centralorgan von Thier und Mensch bereits ausgewachsen oder nahezu ausgewachsen ist. Wie wir gesehen haben, übt das Alter und die Oertlichkeit der durchtrennten Neurofibrillenbahnen einen sehr wesentlichen Einfluss auf die Vorgänge aus, die sich nach der Unterbrechung der Neurofibrillenbahnen einstellen. Die Leitungsunterbrechung kann bedingt sein: 1. durch pathologische Vorgänge, Blutungen, Erweichungen, Geschwülste, Trauma etc. und 2. durch bewusste experimentelle Eingriffe. Bei der sogenannten sekundären Degeneration sind die ersten sich an den Vorgang der Unterbrechung anschliessenden Veränderungen bereits abgelaufen; an dem Fehlen der Markscheide sind jedoch bald grössere, bald kleinere Verlaufstheile des mittleren Abschnittes der Neurofibrillenbahnen leicht zu erkennen; je nach der seit erfolgter Durchtrennung verflossenen Zeit, der Oertlichkeit der Durchschneidungsstelle und dem Alter des betreffenden Individuums können indes auch die beiden grauen Herde (Herd der Ursprungszellen und Herd des letzten Verlaufsabschnittes oder Herd des Endgraues) an den wiederholt erwähnten Erscheinungen identificirt werden. Die anzuwendenden Verfahren sind genau die gleichen wie bei der GUDDEN'schen Methode. In manchen Fällen wird es dienlich sein, ein Markfaserbündel wiederholt und an verschiedenen Stellen zu durchtrennen.

c) Weiter sind zu erwähnen die MARCHI'sche Methode und meine Methode zur Feststellung der Lokalisation der Nervenzellen (zuerst von mir als Methode der primären Reizung, später von anderen als Methode der sogenannten retrograden Degeneration bezeichnet). Diese beiden Methoden beruhen auf dem gleichen Vorgang wie die Methode der sogenannten sekundären Degeneration; es sind gewissermassen Specialmethoden der sogenannten sekundären Degeneration. Während bei der Methode der sekundären Degeneration strictiori sensu das Nervensystem untersucht wird, nachdem die ersten heftigeren Vorgänge bereits abgelaufen sind, fallen diese beiden Methoden in die Zeit, in der die Nervenzellen auf die dauernde Unterbrechung der Neurofibrillenbahn noch lebhaft reagiren, d. h. wo die Markscheiden noch im Zerfall begriffen, resp. in der ihre Zerfallsprodukte noch nicht völlig resobirt sind. Daraus ergiebt sich eine Reihe von Anhaltspunkten für den richtigen Gebrauch beider Methoden, die ebenso wie die Methode der sekundären Degeneration sowohl an pathologisch-anatomischem Material als auch an experimentell vorbehandelten Centralorganen anzuwenden sind.

ad 1. Was die MARCHI'sche Methode betrifft, so wurde ihre Bedeutung für die Faseranatomie bereits genügend gewürdigt. Hauptsächlich kommt es

auf den richtigen Zeitpunkt an; sind die Vorgänge nach der Unterbrechung noch allzu stürmisch, so läuft der Untersuchende Gefahr, die charakteristischen Momente an Orten zu finden, wo sie nicht entstanden sind; ist bereits zu lange Zeit seit der Unterbrechung verflossen, so sind die Zerfallsprodukte wichtiger Bahnen, namentlich wenn sie isolirt dahinziehen, bereits verschwunden. Hier ist die Erfahrung die zuverlässigste Lehrmeisterin.

Nach der Vorschrift werden *möglichst kleine* Gewebsstücke 8 Tage lang in Müller'scher Flüssigkeit behandelt. Von da bringt man die Gewebsstückchen 6—8—10 Tage in eine frisch bereitete Lösung von Müller'scher Flüssigkeit (2 Theile) und $1^0/_0$ Osmiumsäure (1 Theil). Man spare mit dieser Flüssigkeit ja nicht und wechsle lieber dieselbe bei sehr werthvollen Objekten mehrmals; namentlich beachte man diesen Rath dann, wenn man gezwungen ist, grössere Gewebsscheiben nach Marchi zu behandeln. Hierauf erfolgt ein sehr sorgsames Auswaschen der Präparate in womöglich fliessendem weichen Leitungswasser. Bei hartem Wasser ist Aqua destillata entschieden als Auswaschflüssigkeit vorzuziehen. Sodann erfolgt die Einbettung in Celloidin.

Da der Alkohol sowohl gechromte wie osmirte Markscheiden und Markscheidenprodukte angreift und verändert (siehe unten), so ist die Celloidineinbettung, wo immer nur angängig, zu vermeiden. Die ideale Behandlung der Marchi'schen Präparate verlangt eine Weiterbehandlung des in Wasser ausgewaschenen Präparates, bei der Alkohol nicht zur Anwendung gelangt. Nach den bisherigen Erfahrungen hat sich aber kein alkoholfreies Einbettungsverfahren als brauchbar erwiesen. Dagegen hat sich gezeigt, dass bei einer sorgsamen Behandlung der Gewebsstücke nach Marchi die Konsistenz derselben ausgezeichnet ist. Man ist daher im Stande, das *Marchi'sche Material uneingebettet zu schneiden*. Kleinere Gewebsscheiben, z. B. Frontalschnitte durch den Stamm von Kaninchen, ja selbst noch von Katzen und Hunden machen nicht die geringste Schwierigkeit. Man klebt dieselben mit Siegellack auf Kork auf, spannt den Kork in die Mikrotomklammer ein und befeuchtet das Messer reichlich mit Wasser, dem soviel Seife zugesetzt ist, dass das Messer, dessen ganze Scheide ausgenützt wird, gleichmässig mit Wasser benetzt werden kann. Die nicht unter 15 μ dicken Schnitte werden mit dem Pinsel in eine Schale reinen Wassers übertragen; dabei trägt man Sorge, dass dieses Wasser von Seife frei bleibt. Man vermag auf diese Weise auch grössere Gewebsscheiben mit dem Schlittenmikrotom zu bewältigen; allein diese Behandlung erfordert eine grosse manuelle Geschicklichkeit; insbesonders ist es schwierig, sehr grosse Gewebsscheiben in richtiger Weise aufzukleben. Dieselben pflegen sich nämlich in der osmiumhaltigen Flüssigkeit mehr oder weniger zu werfen. Will man das Schlittenmikrotom benützen, so muss die Aufklebefläche durchaus glatt sein. Man trocknet die Aufklebefläche mit Filtrirpapier äusserst sorgfältig ab, so dass sie vollkommen trocken zu sein scheint und setzt die Gewebsscheibe in das noch flüssige, gut klebende Siegellack. Zweckmässiger Weise hilft man sodann mit der glühenden Nadelspitze noch nach, bis die Gewebsscheibe auf dem Korke absolut festsitzt. Kommt man jedoch bezüglich grösserer Gewebsscheiben auf dem Schlittenmikrotom nicht zurecht, so bleibt einem nichts anderes übrig, als dieselben unter Wasser zu schneiden; in diesem Falle werden die Gewebsscheiben nach der alten Gudden'schen Manier (siehe oben) mit einer Mischung aus Wachs, Wallrath u. s. f. im Hohlcylinder des Mikrotoms umgossen und auf diese Weise iminirt.

Aus dem Wasser werden die Schnitte entweder direkt auf den Objektträger gebracht und fertig gestellt oder man lässt sie rasch eine Schale voll $96^0/_0$ Alkohols passiren. Sodann benützt man als Intermedium ein Oel, das gegen Wasser nicht sehr empfindlich ist, wie z. B. grünes Bergamottöl oder Cajeputöl oder auch Karbolxylol und schliesst den Schnitt ein.

Man kann sich leicht überzeugen, dass der Alkohol sofort seine deletäre Wirkung ausübt, wenn nach Vorschrift behandeltes Marchimaterial mit demselben in Berührung kommt. Handelt es sich daher um den Nachweis sehr kleiner Faserbündelchen, so wird man *bestrebt sein, die Präparate aus uneingebettetem Materiale herzustellen*.

Viel weniger empfindlich sind in Müller'scher Lösung erhärtete Präparate, die später osmirt werden. Allein solche Präparate wird man nur im Nothfalle verwerthen. Auf der anderen Seite wird niemand die grossen Schattenseiten der Herstellung von Marchi'schen Präparaten aus uneingebettetem Materiale verkennen. In der Histopathologie wird man fast durchwegs auf die Celloidineinbettung verzichten können; anders ist es in der Faseranatomie. Hier kommt es in vielen Fällen auf möglichst lückenlose Schnittserien an. Allerdings entspricht auch die Celloidineinbettung keineswegs idealen Anforderungen; denn die Grundbedingung für gute Marchi'sche Präparate sind und bleiben möglichst kleine Gewebsstücke; um nur ein Beispiel anzuführen, wird ein Kaninchenthalamus von 12 Mm. grösster Breite und 6 Mm. Tiefe nicht vollkommen von der Osmiumsäure gleichmässig durchdrungen, wenn man denselben durch einen Frontalschnitt halbirt, so dass jede der beiden Gewebsscheiben 3 Mm. Tiefendurchmesser hat. Dabei ist vorausgesetzt, dass die beiden Scheiben allseitig für die Flüssigkeit zugänglich sind und auf Glaswolle liegen; auch wird mit der Osmiumsäure nicht gespart. Will man sicher gehen, muss man schon einen solchen Thalamus in drei parallele Frontalscheiben, je 2 Mm. tief, zerlegen. Jedenfalls aber steht fest, dass bei Anwendung der Celloidineinbettung *weniger* Schnitte verloren gehen, als beim Schneiden aus uneingebettetem

Material. Ebenso wie man uneingebettetes MARCHI-Material mit mit Wasser befeuchteter Klinge schneiden kann, vermag man solches auch mit mit Alkohol benetzter Klinge zu bearbeiten. In diesem Falle genügt schon ein kurzer Aufenthalt in 96% Alkohol, um die Gewebsscheibe mit Gummi arabicum auf Kork zu kleben und zu schneiden (siehe unten). Dieser Modus ist immer noch der Celloidineinbettung vorzuziehen, da die Gewebsscheiben nur sehr kurze Zeit mit Alkohol in Berührung stehen; allein man wird auf denselben meist verzichten; denn kann man überhaupt uneingebettet schneiden, so wird man den Alkohol am besten ganz vermeiden. In manchen Fällen wird man aber ohne Celloidineinbettung nicht zurecht kommen. In diesem Falle bleibt nichts anderes übrig, als möglichst schnell zu arbeiten. Da das richtig vorbehandelte Gewebe meist eine gute Konsistenz hat und die Schnitte sehr dick sein dürfen, verzichtet man lieber auf eine völlige, tadellose Durchtränkung des Gewebes mit Celloidin und erblickt im Celloidin eher ein Hilfsmittel, mit dessen Hilfe man die ganze Gewebsscheibe inkl. der Aufklebefläche in eine lückenlose Schnittserie zu zerlegen im Stande ist, als ein Hilfsmittel zur Gewinnung von Schnitten an sich Es ist geradezu ein Kunstfehler, wenn man das in Wasser ausgewaschene Marchimaterial in immer stärkeren und schliesslich in absoluten Alkohol und dann ebenso in eine immer dickere Celloidinlösung verbringt und es hier auf Tage lang in 80% Alkohol stehen lässt, um dasselbe gelegentlich einmal zu schneiden. Ist man gezwungen, Celloidin zu verwenden, so verbringt man die dünnen Gewebsscheiben direkt aus dem Wasser in 96% Alkohol, nach 24 Stunden in absoluten Alkohol, nach weiteren 24 Stunden in dünnes Celloidin, wo es 12 Stunden verbleibt, um nunmehr auf 24 Stunden in dickes Celloidin überführt zu werden; hierauf werden die Gewebsscheiben am besten 1½ Tage lang in 80% Alkohol gehärtet und sofort unter Befeuchtung der Klinge mit 80% Alkohol geschnitten; können die Schnitte nicht sofort weiterbehandelt werden, so sammle man sie auf Closetpapierstreifen zwischen dem mit Alkohol befeuchteten Filtrirpapier und montire sie gelegentlich.

Bedient man sich des MARCHI'schen Verfahrens in richtiger Weise, d. h. benützt man dasselbe nicht zur Darstellung des Verhaltens der Markfaserbahnen, sondern zur Ermittlung von Faserbündeln, über welche alle anderen Methoden keinen oder nicht genügenden Aufschluss geben, sowie zur Kontrole unsicherer Ergebnisse anderer faseranatomischer Verfahren — trifft man zweitens genau den Zeitpunkt, wo die Zerfallsprodukte nicht nur der dicken, sondern auch der feineren Markscheiden in ausgiebigster Weise sich angesammelt haben, worüber sich keine Regeln aufstellen lassen und die Erfahrung entscheidet, — fixirt man drittens das Gewebe nach Vorschrift in Kaliumbichromatlösung und verbringt sodann die nicht über 2 Mm. dicken Gewebsscheiben in reichliche Mengen der osmiumhaltigen Flüssigkeit, welche allseitig auf das auf Glaswolle liegende Gewebsstück einwirken kann und welche man besser einmal völlig erneuert — und schneidet endlich viertens die mit Siegellack auf Kork aufgeklebte Gewebsscheibe mit einer mit seifigem Wasser befeuchteten Klinge und bringt das Gewebe überhaupt erst vor dem Einschluss in Balsam mit Alkohol in Berührung, so ist das MARCHI'sche Verfahren als eine geradezu unentbehrliche Methode der Faseranatomie zu bezeichnen. Hat man dieses Verfahren in seiner weittragenden Bedeutung erfasst, so ist die schwere Durchdringlichkeit des Gewebes mit Osmium eine zwar äusserst unbequeme Beigabe der MARCHI'schen Methode, aber ihre Anwendung wird dadurch in keiner Weise beschränkt. Die MARCHI'sche Methode ist keine Methode für den Anfänger. Denn ihre Ergebnisse sind nicht wie die Degenerationsbilder in Karmin- oder WEIGERT'schen Präparaten aus dem mikroskopischen Schnitte einfach abzulesen, sondern erfordern eine kritische Beurtheilung und setzen daher die Kenntniss der topographisch-anatomischen Verhältnisse der betreffenden Region des Centralorgans voraus, in welcher die zu untersuchenden Markfaserkomplexe sich befinden. Bei dieser Sachlage kann aber der Faseranatom das nach MARCHI zu behandelnde Gebiet so aus dem Centralorgan ausschneiden, wie es die Technik eben verlangt. Eine ganz besondere Vorsicht ist bei der Beurtheilung von Bündeln mit sehr dünnen Markscheiden am Platze, da die Zerfallsprodukte solcher Fasern leicht resorbirt werden.

Es sind bereits viele Modifikationen der MARCHI'schen Methode angegeben worden. Allein vielfach wird die MARCHI'sche Methode genau in derselben Weise angewendet, wie die WEIGERT'sche Markscheidenfärbung, und das Bestreben geht dann natürlich dahin, das Centralorgan, wie es ist, in eine lückenlose Serie von Schnitten zu zerlegen. In diesem Falle wird man ohne gewisse Kunstgriffe nicht zum Ziele gelangen. Die Frage ist lediglich die: ist es wissenschaftlich gerechtfertigt, ausschliesslich auf Grund der Befunde von MARCHI'schen Präparaten faseranatomische Feststellungen zu machen? Wer diese Frage bejaht, wird ohne Celloidineinbettung nicht auskommen, und er muss bei grossen Objekten noch besondere Kunstgriffe anwenden, um bei dem Verziehen und Werfen dünner Gewebsscheiben in der Osmiumlösung und im Alkohol nicht allzu viel Schnitte zu verlieren. Wer aber die MARCHI'sche Methode mit Auswahl in unserem Sinne anwendet, kommt ohne solche Kunstgriffe zum Ziel. Statt der MÜLLER-schen Lösung der Vorschrift kann man ebenso gut Kaliumbichromatlösung allein ($2^1/_2$—$4^0/_0$) benützen. Zusatz von 2—$4^0/_0$ Formol zu der Kaliumbichromatlösung scheint nicht zu schaden. Es wird übrigens angegeben, dass auch die in Formol vorbehandelten Gewebsstücke die Ausführung der MARCHI-schen Methode ermöglichen. Ebenso vermag man die MARCHI'sche Reaktion noch an Objekten auszuführen, die schon längere Zeit in MÜLLER'scher Lösung, respektive in Kaliumbichromatlösung liegen, vorausgesetzt, dass sie sich noch elastisch weich anfühlen; sind sie bereits hart geworden und zeigen sie schon eine grüne Farbe, so soll man sie nicht mehr verwenden.

Litteratur: MARCHI (Riv. Spec. Freniatr. Med. Leg. 1887, pag. 208), PELLIZZI (Arch. Ital. Biol., Tome 24, 1895, pag. 91), SCHAFFER (Neurol. Centralbl., 17. Jahrg., 1898, pag. 892), BUSCH (Neurol. Centralbl., 17. Jahrg., pag. 476), WEIGERT (Anatom. Hefte, 2. Abth., Bd. 7, 1898, pag. 3), LANGLEY u. ANDERSON (Journ. Phys. Cambridge, Vol. 24, 1899, pag. 31), KIRCHGÄSSER (D. Zeit. f. Nervenheilkunde, Bd. 12, 1898, pag. 79), STARLINGER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899, pag. 179), WLASSAK (Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 6, 1898, pag 453), BING u. ELLERMANN (Arch. f Anat. u. Physiol. 1901, pag. 256), SAINTON (Centralbl. f. Nervenheilk. u. Psych., Bd. 13, 1900, pag. 667), RAIMANN (Neur. Centralbl., Bd. 20, 1901, pag. 608), ORR (Journ. of Pathol. a. Bacteriol., Vol. 6, 1900, pag. 387; vergl. Journ. R. Microsc. Soc., 1900, pag. 399).

ad 2. Was meine Methode anlangt, so ist auch hier der Zeitpunkt der Untersuchung das wichtigste Moment. Leider ist über das Verhalten der centralen Nervenzellen noch viel zu wenig bekannt, als dass ich imstande wäre, bestimmte Regeln aufzustellen. Beim peripheren Nervensystem bestehen zwischen der Schnelligkeit des Eintrittes der Nervenzellenveränderung und der Entfernung der Durchschneidungsstelle der Neurofibrillenbahn von den Ursprungszellen bestimmte Beziehungen. Uebrigens kommt es auch nicht darauf allein an, wann zuerst Veränderungen nachweisbar sind, sondern darauf, wann die mit einer Vielheit gleichlaufender Neurofibrillenbahnen zusammenhängende Vielheit der Ursprungszellen zugleich die hochgradigsten, weil am sichersten erkennbaren Veränderungen darbietet. Nach meinen Erfahrungen restituiren sich centrale Nervenzellen, wenn überhaupt, so doch nur in viel beschränkterem Grade als die Ursprungszellen durchschnittener peripherer motorischer Nerven, und gehen theilweise vollständig zu Grunde. Jedenfalls wird meine Methode nur dann ein ausgezeichnetes Hilfsmittel sein, wenn man durch die Erfahrung die jeweils besten Zeitpunkte für die Vornahme der Untersuchung festgestellt hat. Man wird sich überzeugen, dass es bei meiner Methode nicht allein die Nervenzellen sind, welche den Faseranatomen auf die richtige Spur lenken, sondern auch die Vorgänge in den beiden grauen Herden, welche durch die durchschnittene oder durch Blutungen u. s. w. unterbrochene Markfaserbahn verbunden werden; ja in manchen Fällen erkannte ich sogar letztere an den viel zahlreicheren Gliazellen, die sich ihrem Verlaufe entsprechend entwickelten. Bisher ist die

Methode nur für periphere Nerven benutzt worden; mehr noch wird sie für das centrale Nervensystem leisten.

Was endlich die Ausführung meiner Methode betrifft, so ist die Technik die gleiche, wie bei dem Verfahren der elektiven Färbung der Nervenzellen. Handelt es sich, was ja wohl in der Regel der Fall ist, darum, die Ursprungszellen einer Neurofibrillenbahn sicher und zuverlässig zu erkennen, so werden alle Verfahren genügen, welche den Unterschied einer Gruppe von veränderten Nervenzellen gegenüber derselben Gruppe von normalen Zellen unzweifelhaft sichtbar zu machen imstande sind. Vom faseranatomischen Standpunkte kommt es auf die Feinheiten der Strukturabweichungen gar nicht an. Dieselben sind nur ein äusseres Erkennungszeichen, um die gesuchten Zellen ausfindig zu machen. Daher ist es vor allem wichtig, den Zeitpunkt der Untersuchung richtig zu wählen und zweitens die beste Ebene der Serie zu ermitteln. Es wurde bereits oben auf die Ursprungszellen des Ischiadicus hingewiesen, welche auf Frontalschnitten leicht übersehen werden, während ein Horizontalschnitt ohne weiters aufklärt, wenn er zufällig durch die Zellsäule dieses Nerven geht. Da diese beiden Punkte viel wichtiger sind als ein Verfahren, bei dem die Strukturveränderungen möglichst gleichmässig zutage treten, so wählt man am besten eine Methode, mit deren Hilfe sich Serien leicht herstellen lassen (siehe histologischer Theil). Was aber den Zeitpunkt der Untersuchung betrifft, sowie die zu wählende Schnittebene, so ist auch hier die Erfahrung die beste Lehrmeisterin.

Schliesslich ist noch darauf besonders aufmerksam zu machen, dass bei der Ausführung meiner Methode nicht noch irgend welche andere Schädlichkeiten, speciell Noxen septischer und bakterieller Art mitkonkurriren, die ebenfalls die Nervenzellen zu verändern imstande sind. Dasselbe Mittel, das bei der MARCHI'schen Methode in allen wichtigen Fällen entscheidend ist, nämlich die Kontroluntersuchung, die mit Hilfe wesentlich anderer Methoden auszuführen ist, soll stets auch bei den Ergebnissen meiner Methode in Anwendung gebracht werden. Sind die mit Hilfe meiner Methode festgestellten Ursprungszellen die wirklichen Ursprungszellen einer in ihrer Leitung unterbrochenen Neurofibrillenbahn, so muss die Hinwegnahme des Graues, in dem sich die ermittelten Ursprungszellen befinden, nothwendig zu einer Veränderung der Markscheiden der Axencylinder derselben Neurofibrillenbahnen führen, deren Unterbrechung die Veränderung in den Nervenzellen hervorgerufen hatte. Diese Kontrole ist übrigens nicht die einzige. Meine Methode bildet in Verbindung mit der MARCHI'schen Methode eine vorzügliche Ergänzung zur GUDDEN'schen Methode; vor allem zeigen die beiden ersten Verfahren nicht die unangenehmen Verschiebungen im Gewebe, die bei der GUDDEN'schen Methode stets auftreten.

4. Verfahren der faseranatomischen Forschung, bei welchem gewisse uns noch unbekannte Schädlichkeiten zu einer Veränderung bestimmter Faserbahnen führen. In erster Linie hat die Faseranatomie die Tabes nach dieser Richtung zur faseranalytischen Untersuchung der Rückenmarksfaserung benützt. Da auch Gifte in ähnlicher Weise bestimmte Nervenfasern befallen, so besteht die Möglichkeit, dass durch zielbewusste Untersuchungen sich aus diesen noch wenig ausgebildeten Verfahren ein brauchbares Hilfsmittel der faseranatomischen Forschung entwickelt.

5. Das FLECHSIG'sche Verfahren, bei welchem man von der Annahme ausgeht, dass funktionelle gleichwerthige Nervenfasern ungefähr zur gleichen Zeit markhaltig werden. Vor allem müsste Klarheit darüber geschaffen werden, inwieweit Bündel gleichartiger Nervenfasern im Sinne unserer heutigen faseranatomischen Erkenntniss ungefähr um dieselbe Zeit sich mit Mark umgeben. Auch dürfen wir nicht übersehen, dass die FLECHSIG'sche Methode zunächst nur über den mit Mark umgebenen Verlaufsabschnitt Aufschluss giebt.

Das Gesagte gilt auch für vergleichend-anatomische Forschungen, bei denen die verschiedenen Thiere und Thierklassen nach dem Gesichtspunkte der FLECHSIG'schen Methode verglichen werden.

Von einer Erforschung des centralen Faserlaufes, bei der die markreifen Fasern auf Grund ihres Verhaltens im polarisirten Lichte von den noch nicht ausgereiften Fasern unterschieden werden, kann wenigstens zur Zeit nicht die Rede sein. Das polarisirte Licht ist zwar ein ungemein subtiles Reagens auf die Markfaser überhaupt, also auch für das Verhalten einer Markfaser, deren Neurofibrillenbahn im Axencylinder eine Unterbrechung erfahren hat, allein da die Prüfung nur bei frischen Markfasern gelingt, die noch mit keinem Reagens in Verbindung gebracht worden sind, so kommt der Untersuchung der Markfasern im polarisirten Lichte keine praktische Bedeutung zu.

6. Die Methode der maximalen Differenzirung der Markscheiden, die nach dem WEIGERT'schen Verfahren, resp. nach der PAL'schen Modifikation dieses Verfahrens gefärbt sind. Sie beruht auf einer Erscheinung, die wohl von jedem bestätigt wird, der sich jemals mit der Färbung des Hemisphärenmarkes nach der WEIGERT'schen Methode befasst hat. Ohne auf die Ursachen dieser Erscheinung einzugehen, sei nur kurz auf die bekannte Thatsache hingewiesen, dass sich die Fasergebiete des menschlichen Hemisphärenmarkes bei der Differenzirung sehr ungleich verhalten. Gewisse Fasern geben leicht ihre Färbung ab, während andere viel länger unter denselben Bedingungen die Farbe festhalten. In derselben Differenzirungsflüssigkeit differenziren sich also gewisse Fasersysteme viel rascher als andere. SCHRÖDER hat in letzter Zeit die Aufmerksamkeit wiederum auf diese wohlbekannte Eigenschaft der Markfasern gelenkt und hat besonders darauf aufmerksam gemacht, dass man bei maximaler Differenzirung eines Schnittes durch das menschliche Hemisphärenmark fast handgreifliche Unterschiede im Verhalten der verschiedenen Fasergebiete sichtbar zu machen vermag; dabei betonte er, dass diese Unterschiede sich konstant erwiesen haben. Ohne Frage liegt hier eine Erscheinung vor, die methodisch zur Auseinanderhaltung von Fasergebieten in dem sinnverwirrenden Faserkomplex des menschlichen Hemisphärenmarkes verwerthet werden kann. Gewiss handelt es sich hier um eine Methode, deren Anwendung ausserordentlich beschränkt ist; allein es darf andererseits nicht übersehen werden, dass sie speciell da sich leistungsfähig zeigt, wo bis jetzt alle übrigen Methoden der Faseranatomie im Stiche lassen, nämlich im Fasergewirr des menschlichen Hemisphärenmarkes. Hier sind wir für jede neue Thüre, die sich unserer Erkenntniss öffnet, dankbar, und wäre sie noch so klein. Immerhin vermag man mit der Methode der maximalen Differenzirung schon heute eine Anzahl sich scharf von einander abgrenzender Markfasergebiete aus dem Fasergewirr des menschlichen Hemisphärenmarkes herauszuschälen. Ueber die Bedeutung einer zuverlässigen Faseranalyse im Hemisphärenmarke braucht man keine Worte zu verlieren.

Die Voraussetzung für die Methode der maximalen Differenzirung sind lückenlose Schnittserien durch das menschliche Hemisphärenmark. Die maximale Differenzirung muss dabei systematisch nach bestimmten Gesichtspunkten erfolgen.

7. Das Studium der Missbildungen des centralen Nervensystems mittels lückenloser Serienschnitte. Auf die systematische Verwerthung von Missbildungen (Anencephalie, Amyelie, Cyklopie) zu faseranatomischen Zwecken hat bereits GUDDEN hingewiesen. So findet man z. B. in seinen hinterlassenen Aufsätzen die Beschreibung eines Idiotengehirns etc. Allein erst in jüngster Zeit hat man begonnen, dem Studium

von Missbildungen grössere Aufmerksamkeit zu schenken und dasselbe zielbewusst zu faseranatomischen Forschungen zu benützen.

8. Als letztes faseranatomisches Verfahren ist noch die GOLGI'sche Methode zu nennen. Unter Umständen kann auch die EHRLICH'sche Methode der Methylenblaufärbung in der gleichen Weise wie die GOLGI'sche Methode verwerthet werden. Die hervorragende Bedeutung der GOLGI'schen Methode für die faseranatomische Forschung wurde bereits erörtert.

Mikroskopische Technik der Histologie des Nervensystems.

Allgemeines.

Vielfach wird die Histologie des Nervensystems kurzweg als mikroskopische Anatomie des Nervensystems bezeichnet. Thatsächlich aber ist diese Benennung falsch. Denn auch die Faseranatomie gehört zur mikroskopischen Anatomie des centralen Nervensystems. Man braucht sich nur klar zu machen, dass die Histologie des centralen Nervensystems durch das Objekt der Untersuchung, nämlich durch die Zellen und Zellenprodukte, welche das Gewebe des centralen Nervensystems aufbauen, die mikroskopische Anatomie aber lediglich durch das der Untersuchung dienende Forschungsmittel, das Mikroskop, gekennzeichnet ist. Hier tritt uns wiederum der zweifellos bestehende Unterschied zwischen der Histologie des centralen Nervensystems und der Faseranatomie vor Augen.

Infolge der eigenartigen Entwicklung, welche die mikroskopische Anatomie des Nervensystems genommen hat, gab es bis vor wenigen Jahren keine Histologie des Nervensystems als besonderes Forschungsgebiet; die Histologie des Nervensystems, sowie auch die Histopathologie der Centralorgane war sozusagen nur das Appendix der mikroskopischen Anatomie des Nervensystems, welche sich hauptsächlichst mit der Faseranatomie beschäftigte. Daher galten auch die Faseranatomen als die kompetenten Specialforscher auf histologischem und histopathologischem Gebiete, und mit vollem Recht: war doch jahrzehntelang die Technik des Kaliumbichromatkarminpräparates die souveräne Technik auf dem Gebiete der Faseranatomie, der Histologie und Histopathologie.

Mit der Einführung neuer technischer Verfahren änderte sich die Sachlage, aber nur sehr langsam; so hatte die Histologie des Nervensystems trotz des gewaltigen Aufschwungs, den die mikroskopische Anatomie des Nervensystems der Aufstellung des Neuronenbegriffes verdankte, unter der Ungunst äusserer Verhältnisse ganz besonders zu leiden. Schliesslich aber brach sich die histologische Forschung doch Bahn und im letzten Lustrum hat sich die Histologie des Centralnervensystems besonders unter dem Einfluss von histopathologischen Untersuchungen derart entwickelt, dass sie heute nicht mehr blos das Appendix der Faseranatomie ist, sondern thatsächlich die ihr gebührende Stellung einnimmt, nämlich die Stellung eines bis zu einem gewissen Grad selbständigen Forschungszweiges innerhalb des grossen Gebietes der mikroskopischen Anatomie des centralen Nervensystems.

Die moderne Histologie des centralen Nervensystems befasst sich mit der Erforschung des Gewebes des centralen Nervensystems und dessen Genese aus Zellen und Zellenprodukten. Sie ist bestrebt, die morphologischen, tinktoriellen und, wenn möglich, auch die chemischen Eigenschaften sämmtlicher Zellen zu ermitteln, die am Aufbau der einzelnen Gewebstheile des centralen Nervensystems theilnehmen. In genau derselben Weise sucht sie die morphologischen, tinktoriellen und chemischen Eigenschaften jener Formbestandtheile des centralen Nerven-

systems aufzudecken, welche selbst die Qualitäten von Zellen nicht besitzen, sondern als Zellenprodukte sich erweisen.

Die histologische Technik ist das wichtigste Hilfsmittel der Histologie des centralen Nervensystems. Nur dadurch vermag letztere ihren vielseitigen Aufgaben gerecht zu werden, dass sie von dem gesammten Rüstzeug der modernen histologischen Technik den ausgiebigsten Gebrauch macht. Es giebt keine histologische Technik für die Erforschung des centralen Gewebes, sondern die technischen Grundsätze bleiben dieselben, ob wir Muskelgewebe oder das Gewebe der grauen Geflechte, ob wir die Leber oder die Hirnrinde histologisch analysiren. Es liegt aber in der Eigenart der Gewebe begründet, dass sich neben dem allgemeinen technischen Verfahren auch specielle Methoden entwickelt haben, die der Eigenart der verschiedenen Gewebsarten Rechnung tragen.

Specielles.

Unsere Aufgabe gliedert sich nach den Objekten, die wir zu untersuchen haben.

In erster Linie behandeln wir die Gesammtheit aller centralen Nervenzellen, speciell mit Rücksicht auf die im Zellleib enthaltene, mit Farbbasen tingirbare, Substanzgruppe. Ueber die Glia und die Blut- und Lymphgefässe haben wir vom technischen Standpunkt nur wenig zu sagen.

Nervenzellen. Leider besitzen wir zur Zeit keine Verfahren, welche es uns ermöglichen, die Nervenzellen einer Gegend speciell mit Rücksicht auf ihre äussere Form, ihre Dendritenbäume und Axencylinderfortsätze vollkommen klar zu übersehen. Zufällig erhalten wir wohl dann und wann in gelungenen Apáthy'schen Goldpräparaten oder in den Bethe'schen Neurofibrillenpräparaten die gewünschte Uebersicht; jedoch giebt es noch keine Methode, mit deren Hilfe man die Nervenzellen und ihre sämmtlichen Fortsätze sicher und zuverlässig darzustellen imstande wäre. Den besten Einblick in diese Verhältnisse gewähren noch immer die Präparate der Golgi'schen Methode, unter Umständen auch die der Ehrlich'schen Methylenblautinktion. Vor allem vermisst man eine Methode, mit deren Hilfe man in Nervenzelle für Nervenzelle den Axencylinderfortsatz sicher von den Dendriten zu unterscheiden und die Verhältnisse an seinem peripheren Ende klar zu übersehen imstande wäre. Die Golgi'sche Methode genügt dieser Forderung nicht. Will der Histologe die Axencylinderfortsätze jeder einzelnen Nervenzelle einer Region untersuchen, so muss er hierzu pathologisch verändertes Gewebe benützen, in dem die Axencylinderfortsätze in übersichtlicher Weise dargestellt werden können; bis jetzt aber hat sich nur die sogenannte akute Erkrankung der Nervenzellen der menschlichen Rinde als für diesen Zweck geeignet erwiesen. Dabei wird die Methode der elektiven Darstellung der Nervenzellen benützt. (Vergl. Archiv f. Psychiatrie, Bd. 32, pag. 659.)

Vorderhand giebt es keinen anderen Weg, um sich einen Einblick in die äussere Form der Nervenzellen, ihren Dendritenbaum und die Axencylinderfortsatzverhältnisse zu verschaffen, als den der Kombination der mikroskopischen Bilder verschiedener Verfahren. Eine solche Kombination ist aber nur auf der Grundlage eines gemeinsamen Uebersichtspräparates möglich, das in den verschiedensten Händen zuverlässig und sicher stets die gleichen mikroskopischen Bilder liefert, so dass man die Nervenzellenbilder der verschiedenen Verfahren relativ zuverlässig auf die gleichmässigen Bilder des Uebersichtspräparates zurückzuführen vermag.

Was die Untersuchung der näheren Beziehungen zwischen den Nervenzellen und ihrer Umgebung anlangt, so ist vor allem

daran zu erinnern, dass die Histologie der grauen Substanz noch gänzlich im Dunkeln sich befindet; wir kommen hierauf noch zurück.

Bevor wir auf die technischen Verfahren übergehen, welche zur Darstellung der feineren Strukturverhältnisse in den Nervenzellen dienen, sind vor allem jene allgemeinen Gesichtspunkte zu erörtern, die für die Beurtheilung der in der Nervenzellenanatomie gebräuchlichen Reagentien von Wichtigkeit sind.

Erstens bestehen zwischen der Mehrzahl der heute gebräuchlichen Fixirlösungen und folgenden vier Reagentien: Alkohol, Formol, Sublimat und zum Theil auch noch Salpetersäure bestimmte, regelmässig auftretende Unterschiede.

Fixirt man nervöses Gewebe mit den letzteren Reagentien, z. B. mit Alkohol, und überfärbt die aus solchem Gewebe erhaltenen Schnitte mit wässerigen Lösungen von Farbbasen und wäscht die nicht festhaftende Farbe in Alkohol oder alkoholhaltigen Flüssigkeiten aus, so sind unter Umständen nur bestimmte Substanztheile des Nervenzellenleibes sämmtlicher centraler Nervenzellen mit der Farbbase tingirt: wir bezeichnen diese sich mit Farbbasen tingirenden Bestandtheile des Nervenzellenkörpers als die sich mit Farbbasen blass, mittelstark und intensiv färbenden Substanzen der Nervenzellen. Die zwischen ihnen befindlichen Substanzen der nervösen Zellen, der grösste Theil der Dendritensubstanz und der Axencylinderfortsatz bleiben ungefärbt, während im Kerne der Nervenzellen unter allen Umständen die Membran und das Kernkörperchen sehr deutlich tingirt wird. Je nach Wahl der basischen Farbe werden auch Körnchen des Kerninneren gefärbt, die in dem sogenannten Liningerüst eingebettet zu sein scheinen. In den grosszelligen Nervenzellenarten, namentlich in jenen, welche reichliche Mengen von sich mit Farbbasen intensiv tingirenden Substanzportionen in gleichmässiger Weise vertheilt enthalten, bleibt der Kerninhalt vielfach absolut ungefärbt; in solchen Kernen ist nur die Membran und der Nukleolus tingirt. Dagegen wird von denselben basischen Farbstoffen der Kerninhalt der kleineren Nervenzellen in der Regel blass und verwaschen gefärbt. Im übrigen ist noch hervorzuheben, dass das übrige nervöse Gewebe die Farbbasen nicht festhält; neben den genannten Nervenzellenbestandtheilen sind im Schnitte noch die sich mit Farbbasen gewöhnlich tingirenden Zellkernbestandtheile der Glia- und Gefässwandzellen tingirt.

Dieses Verhalten ist unschwer festzustellen; allerdings treten leicht Abweichungen auf, namentlich mit Rücksicht auf die Tinktion des nervösen Gewebes und der Axencylinder; auch verhalten sich die einzelnen Farbbasen verschieden. Im allgemeinen aber kennzeichnet das geschilderte Verhalten den Ausfall der Färbung.

Wesentlich anders ist das Ergebniss, wenn wir das ebenso fixirte Gewebe mit sauren Farben tingiren. Der wesentliche Unterschied zwischen dieser und der Färbung mit Farbbasen besteht darin, dass die Farbe an allen Theilen des Schnittes ungemein fest haftet, und dass stets eine diffuse Tinktion resultirt. Auch hier giebt es im Detail eine Menge von Abweichungen je nach Wahl des Fixirmittels und der sauren Farbe; trotzdem aber besitzen die mikroskopischen Bilder im grossen Ganzen denselben histologischen Charakter. Würden nicht auch die graue Substanz, die Gliabestandtheile und die Axencylinder die saure Farbe annehmen, so würde man vollständige Nervenzellenbilder, die gesammten Dendritenbäume und die Axencylinderfortsatzverhältnisse erkennen können; in Wirklichkeit aber sind die Dendritenbäume, die Axencylinderfortsätze, ja selbst Bestandtheile des Nervenzellleibes zu einem grossen Theile gewissermassen für unser Auge ausgelöscht; in den diffus gefärbten Schnitten sind nur jene Theile der Nervenzellen als solche zu identificiren, die sich infolge von Färbungsunterschieden

oder besonderer optischer Brechungsverhältnisse von dem gleichmässig gefärbten Gewebe abheben.

So wenig auch die in einem mit Alkohol oder Formol oder Sublimat oder Salpetersäure vorbehandelten und mit Farbbasen oder Farbsäuren gefärbten Schnitte dargestellten Nervenzellen dem Nervenzellengebilde eines Golgi'schen oder eines gut gelungenen Neurofibrillenpräparates ähnlich sind, so würde man doch von den im Gewebe fixirten Nervenzellen das gleiche mikroskopische Bild erhalten, wenn man die Substanz der Nervenzellen und ihrer Fortsätze allein zu schwärzen imstande wäre. Die Richtigkeit dieser Behauptung lässt sich am evidentesten mit Hilfe gewisser pathologischer Veränderungen beweisen, bei denen die mit Farbbasen nicht tingirbaren Substanzen des Nervenzellenkörpers andere färberische Eigenschaften erhalten. Während die sogenannten Kernzellen (karyochrome Nervenzellen), deren Zellkörper und Fortsätze grösstentheils aus sich mit Farbbasen nicht tingirenden Substanzen bestehen und daher bei Färbung der Schnitte mit Farbbasen für das Auge wie ausgelöscht sind, sich im mikroskopischen Bilde als Nervenzellenkerne präsentiren, denen winzige, sich mit Farbbasen blass oder auch stärker tingirende Substanzmengen angelagert sind, zeigen sie unter den genannten pathologischen Voraussetzungen einen vollständigen Zellleib mit Dendriten und dem Axencylinderfortsatz, der der entsprechenden Nervenzelle im Golgi'schen Präparate ähnlich ist.

Daraus folgt also der für die histologische Technik des centralen Nervensystems wichtige Satz, dass bei der Vorbehandlung des Gewebes mit Alkohol, Formol, Sublimat und zum grossen Theil auch mit Salpetersäure die Gesammtheit aller Nervenzellen stets in ungefähr gleicher äusserer Gestalt fixirt wird. Mag das bei der Färbung erzielte Bild noch so verschieden sein: in Wirklichkeit ist der Zellleib mit dem gesammten Dendritenbaum und dem Axencylinderfortsatz im Präparate enthalten. Würde man also in den mit den genannten Fixirmitteln erhaltenen Präparaten die Nervenzellen, Dendriten und Axencylinderfortsätze allein zu färben imstande sein, so würde man von jeder Nervenzelle ein ungefähr analoges mikroskopisches Bild erhalten.

Wesentlich anders verhalten sich alle übrigen bis jetzt bekannten Fixirmittel, die zur Darstellung der Nervenzellen benützt werden, nämlich chromsäurehältige Flüssigkeiten, Pikrinsäurelösungen, Chromsalzlösungen und die einzelnen, nach verschiedenen Autoren benannten Flüssigkeiten, z. B. die Flemming'sche, Hermann'sche, Merkel'sche, Zenker'sche Lösung u. s. w. Bei Anwendung dieser Reagentien wird nämlich nur ein Theil der gesammten centralen Nervenzellen in der soeben geschilderten Form fixirt.

Es wurde bereits hervorgehoben, dass bei der Fixirung des Gewebes mit Alkohol, Formol, Sublimat und Salpetersäure die Präparate nur im allgemeinen einen gleichartigen histologischen Charakter zeigen, wenn man die auf diese Weise gewonnenen Schnitte mit Farbbasen überfärbt und sodann die überflüssige Farbe auswäscht. Vergleicht man derartige, mit verschiedenen Reagentien und Farbbasen behandelte Schnitte, so fällt sofort auf, dass die grosszelligen und jene mittelgrossen Nervenzellen, welche z. B. in einem mit Alkohol fixirten und mit Methylenblau gefärbten Schnitte intensiv mit Methylenblau tingirte Substanzportionen in reichlicher Menge und gleicher Vertheilung enthalten, ein ganz ähnliches mikroskopisches Bild auch bei Sublimat-, Salpetersäure- oder Formolbehandlung und Färbung mit basischem Fuchsin oder Vesuvin oder Neutralroth darbieten. Dagegen zeigen jene kleineren und mittelgrossen Nervenzellen, welche im Alkohol-Methylenblaupräparat neben den vorhandenen intensiv mit Farbbasen tin-

girten Substanzen hauptsächlich nur mittelstark und blass tingirte Substanzen enthalten, keineswegs eine so augenfällige Uebereinstimmung in den verschieden fixirten und gefärbten Präparaten wie die grosszelligen Nervenzellen mit den reichlich vorhandenen, sich intensiv mit Farbbasen tingirenden Zellleibssubstanzen.

Was nun die mit Chromsäure, FLEMMING'scher Lösung u. s. w. fixirten Präparate betrifft, so stimmt der Theil der Nervenzellen, der in ungefähr gleicher äusseren Gestalt wie die mit Alkohol, Formol u. s. w. vorbehandelten Nervenzellen fixirt werden, ziemlich genau mit jenen grosszelligen und mittelgrossen Nervenzellen überein, die in ihrem Zellleib reichliche Mengen von sich mit Farbbasen intensiv tingirenden Substanzportionen in annähernd gleichmässiger Vertheilung enthalten. Die mit Farbbasen tingirbaren Substanztheile kann man auch bei der Vorbehandlung mit Chromsäure, Pikrinsäure, FLEMMING'scher oder HERMANN'scher Lösung u. s. w. in diesen Zellen sichtbar machen, wenn auch diese Zellleibssubstanzen nicht so vollständig zutage treten wie bei der Vorbehandlung mit Alkohol, Formol, Sublimat und Salpetersäure, vorausgesetzt, dass man für die verschiedenen Zellarten das jeweilig geeignetste Fixir- und Färbeverfahren benützt. Sieht man von den sich mit Farbbasen färbenden Zellleibstheilen der Nervenzellen ab, so sind diese mit Hilfe der genannten Fixirverfahren gewonnenen und mit der jeweils zweckmässigsten Färbemethode erhaltenen Nervenzellenbilder an sich mindestens ebenso klar und scharf gezeichnet wie die entsprechenden Nervenzellen z. B. in einem Alkohol-Methylenblaupräparat. Ja gegenüber den mit Alkohol, Formol, Sublimat und Salpetersäure fixirten Nervenzellen besitzen sie den Vorzug, dass in den mikroskopischen Bildern ihrer Zellkerne die Kernmembran, das Liningerüst, die Struktur der Nukleolen, die stets in der Farbe der Polkörperchen zutage tretenden und im Liningerüst suspendirten Körnchen, sowie der homogene Kernsaft entschieden distinkter zur Darstellung gelangt. Auch die Zellfortsätze lassen sich im allgemeinen mindestens ebenso gut, wenn nicht besser sichtbar machen, wie bei der Behandlung des Gewebes mit den genannten vier Reagentien; der Zusammenhang zwischen den Axencylinderfortsätzen und den Axencylindern markhaltiger Nerven ist sogar leichter zu konstatiren, weil es nicht schwierig ist, in dünnen Schnitten die Axencylinder markhaltiger Nerven zu färben.

Während aber bei der Vorbehandlung mit Alkohol, Formol u. s. w. die Gesammtheit aller centralen Nervenzellen in gleicher Form fixirt wird, gelangen bei der Fixirung mit allen anderen heute üblichen Fixirungsreagentien nur die grosszelligen und mittelgrossen Nervenzellen, welche reichliche Mengen von sich mit Farbbasen intensiv tingirenden Substanzen enthalten, in derselben Weise zur Darstellung. Alle übrigen Nervenzellenarten, speciell diejenigen, deren Zellkörper im Alkohol-Methylenblaupräparate vornehmlich nur mit Farbbasen blass und mittelstark sich tingirende Substanztheile enthalten, werden von Chromsäure, Pikrinsäure, FLEMMING'scher, HERMANN'scher, MERKEL'scher Lösung u. s. w. in wesentlich anderer Form fixirt.

Bei Anwendung dieser Vorbehandlungsreagentien färbt sich das die Nervenzellen umgebende Gewebe stets mehr oder weniger stark, gleichviel welches Färbeverfahren man auch benützt. Während aber die grosszelligen und mittelgrossen Nervenzellen, die in dieser Weise fixirt sind, je nach dem gewählten Färbeverfahren ungefähr im gleichen Farbton oder doch nur um wenige Nuancen schwächer, häufig sogar stärker als das sie umgebende Gewebe tingirt sind, erscheinen alle übrigen Nervenzellen ganz bedeutend heller als ihre Umgebung gefärbt. Infolge dessen heben sich die nur schwach gefärbten Nervenzellen ausserordentlich deutlich von ihrer stärker gefärbten Umgebung ab. Man sollte nun annehmen, dass unter

solchen Umständen die charakteristische Gestalt der Nervenzellen, die vom Zellleib abgehenden Dendriten und Axencylinderfortsätze, viel deutlicher hervortreten als bei anderen Verfahren. Thatsächlich trifft aber das gerade Gegentheil zu. Sie zeigen weder die Form der entsprechenden Nervenzellen im GOLGI'schen noch im BETHE'schen, noch im elektiv tingirten Nervenzellenpräparate, sondern eine wesentlich andere Gestalt, nämlich die Gestalt blassgefärbter kernhaltiger, von mehr oder weniger stark gefärbtem Gewebe umgebenen Bläschen. Obschon der Begriff »Bläschen« oder »bläschenförmig« an sich mit Recht beanstandet werden muss, weil er viel zu vage ist, so ist er nun einmal in der Histologie eingebürgert; vor allem aber wird er dadurch gerechtfertigt, dass die sogenannten Bläschenzellen GANSER'S in der Nervenzellenanatomie ein äusserst charakteristisches, wohlbekanntes Phänomen darstellen (vergl. Morphol. Jahrb., Bd. VII, pag. 618) und dass die wohl grössere Hälfte der Gesammtheit aller centralen Nervenzellen bei der Vorbehandlung mit Chromsäure, Pikrinsäure, FLEMMING'scher Lösung u. s. w. in einer Form fixirt wird, welche ihr Paradigma in den bläschenförmigen Zellen GANSER'S findet, welcher das Gewebe langsam in Kaliumbichromatlösungen erhärtete.

Es ist nicht unsere Aufgabe, das Verhältniss zwischen den mit Chromsäure, Pikrinsäure etc. in Bläschenform fixirten Zellformen und den bläschenförmigen Zellen GANSER'S zu schildern. Die bei Anwendung der einzelnen Fixirmittel und bei den verschiedenen Nervenzellenarten auftretenden »Bläschenformen« sind überaus different und die in den »bläschenförmigen« Zellleibern sichtbaren Strukturen nicht leicht zu deuten. Bei den bläschenförmigen Zellen GANSER'S handelt es sich, wie es scheint, um einen artificiellen Zerfall des Zellleibes; daher finden wir auch bei den einzelnen Zellarten im allgemeinen das gleiche Bild. Wenn wir die bläschenförmig fixirten Zellen und die bläschenförmigen Bildungen GANSER'S vergleichen und letztere als Paradigmata der ersteren bezeichnen, so wollen wir dadurch lediglich die im allgemeinen vorhandene Aehnlichkeit der äusseren Form zwischen den bläschenförmig fixirten und den bläschenförmigen Zellen GANSER'S, sowie die ebenso im allgemeinen bestehende Aehnlichkeit der tinktoriellen Beziehungen ausdrücken, welche zwischen dem kaum gefärbten Zellleib der bläschenförmig fixirten und den bläschenförmigen Zellen GANSER'S und ihrer stark tingirten Umgebung regelmässig nachweisbar sind.

Ueber die Art und Weise der Beeinflussung der Nervenzellensubstanzen durch das doppeltchromsaure Kali wissen wir nur sehr wenig, obschon man Jahrzehntelang die Nervenzellen ausschliesslich mit diesem Reagenz vorbehandelt hat. Es wäre geradezu ein Kunstfehler, wenn man die langsame Erhärtung des nervösen Gewebes in Kali bichromicum im Sinne der alten Forscher, welche die auf diese Weise gewonnenen Schnitte mit Ammoniakkarmin und Nigrosin färbten, als ein Verfahren zur Darstellung von Nervenzellenstrukturen benützen würde. Die Darstellung der ALTMANN'schen Granula (Elementarorganismen in den Nervenzellen), welche nach dieser Vorbehandlung mit Hilfe der WEIGERT'schen Mitosenfärbung möglich ist, ist so unsicher, dass es ein Zufall ist, wenn dieselbe einmal — dann freilich in sehr klarer Weise — gelingt. Ueber die Ursache des unregelmässigen Auftretens der bläschenförmigen Zellen GANSER'S wissen wir gar nichts. Im allgemeinen aber liefern hauptsächlich diejenigen Zellarten, die auch sonst im bläschenförmigen Zustande fixirt werden, das Hauptkontingent für die bläschenförmigen Zellen GANSER'S. Gewisse Zellarten (z. B. die der grossen Ganglien beim Kaninchen) werden fast regelmässig als bläschenförmige Zellen GANSER'S sichtbar. Andererseits treten die letzteren nur selten bei denjenigen Zellarten auf, welche in derselben äusseren Form fixirt werden wie die entsprechenden Nervenzellen des GOLGI'schen Präparates, ja einige Zellarten,

z. B. die motorischen Zellen, die Spinalganglien u. s. w. werden niemals in bläschenförmige Zellen GANSER's umgewandelt.

Bei den Lösungen von doppeltchromsaurem Kali sind scharf auseinander zu halten die moderne Fixirung des nervösen Gewebes mit Kaliumbichromat und zweitens seine frühere langsame Erhärtung. Allerdings wird das doppeltchromsaure Kali zur Zeit nur in Verbindung mit anderen Vorbehandlungsreagentien als Fixirmittel angewendet. Als Fixirmittel verhält sich das doppeltchromsaure Kali im allgemeinen analog den übrigen Reagentien, d. h. es fixirt nur einen Theil der Gesammtheit aller centralen Nervenzellen in der äusseren Form der entsprechenden Nervenzellenarten, wie sie im GOLGIschen Präparate zutage treten, während ihre andere grössere Hälfte in bläschenförmiger Form zur Darstellung gelangt. Zwischen letzteren und den echten bläschenförmigen Zellen GANSER's, die infolge der langsamen Erhärtung des nervösen Gewebes auftreten, besteht, wie bereits ausgeführt wurde, nur eine Aehnlichkeit hinsichtlich der äusseren Form und der tinktoriellen Beziehungen zwischen Zelle und ihrer Umgebung, nicht aber hinsichtlich der Substanzanordnung im Inneren des bläschenförmigen Zellleibes.

Das Ergebniss sorgfältiger Untersuchungen, bei denen z. B. der Thalamus der gleichen Kaninchen mit verschiedenen Reagentien vorbehandelt wird, beweist durchaus einwandsfrei, dass das Phänomen der Ueberführung der charakteristischen Nervenzellenform in Bläschenform jedenfalls in erster Linie eine Reagenzwirkung ist. Soweit wir heute einen Einblick in diese Vorgänge besitzen, sind die im Präparate meist nicht sichtbaren Zellfortsätze unzähliger bläschenförmig fixirter Zellen nicht etwa nur infolge tinktorieller und optischer Ursachen nicht zu erkennen, so wie es bei den Fixirungen mit Alkohol, Formol, Sublimat und Salpetersäure der Fall ist, in denen sie lediglich für unser Auge ausgelöscht, in Wirklichkeit aber vorhanden sind, sondern sie scheinen in der That überhaupt nicht mehr, resp. zum grössten Theil nicht mehr im Präparate enthalten zu sein; d. h. die Substanz der Zellfortsätze solcher bläschenförmigen Zellen hat sich infolge der Reagenzwirkung derart verändert, dass unter der Annahme einer ideal elektiven Schwärzung des Zellleibes und der Substanz seiner Fortsätze nicht mehr das Bild einer nach GOLGI gefärbten Nervenzelle, sondern die Gestalt des bläschenförmigen Zellleibes zutage treten würde, deren Substanz sich nicht mehr nach dem Paradigma der uns bekannten Nervenzellenbilder, zu Nervenzellenfortsätzen verjüngt.

Es sei hier auf die Thatsache hingewiesen, dass man in einem mit Chromsäure, ZENKER'scher Flüssigkeit, Pikrinsäure, FLEMMING'scher Lösung u. s. w. vorbehandelten Gewebe bei denjenigen Nervenzellenarten, welche in Gestalt bläschenförmiger Elemente fixirt werden, häufig Nervenzellen findet, die nicht die blasige Gestalt, sondern eine Form zeigen, wie die entsprechenden Zellen im GOLGI'schen Präparat. Dabei sind solche Zellen regelmässig viel stärker gefärbt als ihre Umgebung zeigen sich in toto so tingirt, dass man structurelle Einzelheiten nicht erkennt, und sind äusserst scharf konturirt; an der Abgangsstelle von Fortsätzen, die oft weithin sichtbar und vielfach geschlängelt sind, finden sich nicht sphärische Linien, sondern deutliche Winkel; die pericellulären Schrumpfräume, die bei den bläschenförmig fixirten Zellen in dem Zellleib aufgehen, erscheinen beträchtlich erweitert.

Solche Zellen finden sich aber nicht nur bei den bläschenförmigen Zellen, sondern konnten bei sämmtlichen Vorbehandlungsreagentien, die bis jetzt zur Darstellung von Nervenzellen angewendet wurden, ohne Ausnahme konstatirt werden. Es ist sicher, dass es sich bei diesen Nervenzellen um ein Phänomen handelt, das in erster Linie durch den reagentiellen

Einfluss hervorgerufen wird. Bei jenen Vorbehandlungsreagentien, welche ein bestimmtes Strukturbild des Zellleibes und der Kerne fixiren, verschwindet dieses Bild, weil alle Färbeverfahren Zellen, die in diesen Zustand infolge von Reagenzwirkung übergeführt werden, ad maximum tingiren. Deshalb habe ich diese Zellen früher »chromophile« Zellen genannt. Da dieser Ausdruck missverstanden wurde, schlage ich den Ausdruck »künstlich geschrumpfte Zellen« vor. Die »künstlich geschrumpften Zellen« sind also stets chromophil, und zwar ad maximum sowohl gegen Farbbasen wie Farbsäuren. Ich füge hier noch bei, dass die künstliche Schrumpfung sich ausserordentlich verschieden in ihrem Auftreten erweist. Je nach Individuum, Thierart, Nervenzellart und Vorbehandlungsreagenz begegnet man den künstlich geschrumpften Zellen in ausserordentlich wechselnder Häufigkeit. Im allgemeinen sind sie beim Menschen auffallend selten. Leider wissen wir vom Vorgang der künstlichen Schrumpfung so gut wie nichts; daher können wir auch gar keine Verhaltungsmassregeln geben. Von einem Kaninchenrückenmark habe ich einmal zwei Segmente gleichzeitig nach FLEMMING fixirt und mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin tingirt. Die motorischen Vorderhornzellen des einen Segmentes zeigten in wunderbar klarer Weise die Vertheilung der sich im Alkoholmethylenblaupräparat intensiv färbenden Substanztheile; ebenso tadellos war das Strukturbild der Kerne. Nach oberflächlicher Schätzung waren höchstens zwischen 5—10% der motorischen Zellen künstlich geschrumpft. Im anderen Segment fanden sich nur einzelne, aber ebenso klar dargestellte motorische Zellen; mindestens 95%, eher noch mehr, motorische Zellen waren künstlich geschrumpft, während die anderen Zellarten des Rückenmarkes ausgezeichnete Bilder lieferten. Man unterscheidet eine totale und partielle künstliche Schrumpfung; im letzteren Falle ist meist nur der Kern künstlich geschrumpft, seltener erweist sich der Zellleib oder Theile des Zellleibes allein künstlich geschrumpft. Die partielle künstliche Schrumpfung kann sich auch darin zeigen, dass die Färbung nicht maximal ist. Die Unterscheidung derartig partiell künstlich geschrumpfter Zellen, in denen infolge der nicht maximalen Tinktion noch Andeutungen von Struktur erkennbar sind, von nicht künstlich geschrumpften Zellen, welche sich erfahrungsgemäss schon normaliter stark färben, scheint in Präparaten, in welchen die einzelnen Zellleibssubstanzen nicht elektiv dargestellt werden, wenigstens zur Zeit noch unmöglich. Die partielle künstliche Schrumpfung der Zellkerne kann zu den allermerkwürdigsten Formen führen. Der Kern ist in toto verkleinert und stellt ein tiefgefärbtes, homogen aussehendes — manchmal ist der Nukleolus noch erkennbar — rundliches oder eckiges Gebilde dar. In diesem Falle ist häufig die unmittelbare Umgebung des verkleinerten Kernes auffallend blass gefärbt. Oder — der seltenere Fall — die Membran ist deutlich gefärbt; oft sind die Konturen nicht mehr sphärisch. Die Membran umschliesst einen absolut ungefärbten Inhalt, der freilich zu mindestens neun Zehntel von einem intensiv tingirten, homogenen Substanzklümpchen, das rund, eckig, sternförmig etc. sein kann, ausgefüllt ist.

Aus den bisherigen Ausführungen geht hervor, dass mit Ausnahme von vier Reagentien alle anderen bis jetzt als Vorbehandlungsmittel zur Darstellung von Nervenzellen angewandte Flüssigkeiten mehr als die Hälfte sämmtlicher centraler Nervenzellen in einer durchaus vom Vorbehandlungsmittel beeinflussten Weise fixiren. Denn auch die zwischendurch auftretenden künstlich geschrumpften Elemente der gleichen Zellarten entsprechen zwar vollständig den GOLGI'schen Zellbildern; ihre äussere Form und Struktur ist aber ebenfalls vom Reagenz modificirt.

Auffallend klar und scharfgezeichnet sind die Kernbilder der in Bläschenform fixirten Nervenzellen, namentlich wenn man das für

jede Zellart zweckmässigste Fixirmittel und das joweilig geeignete Färbeverfahren anwendet. Dabei bleibt der Kernsaft stets ungefärbt und erscheint völlig homogen; in äusserst scharfer Zeichnung tritt die Kernmembran zutage; von dem absolut ungefärbten Kernsaft hebt sich das nur blass gefärbte Liningerüst hinreichend deutlich ab; die stets am intensivsten tingirten Kernbestandtheile sind die Polkörperchen der Nukleolen und ihre Anlagerungskörner; der Kernkörperchenhaupttheil erscheint viel weniger stark gefärbt und lässt weitere Einzelheiten erkennen. Die im Liningerüst suspendirten, sowie auch der Innenwand der Membran anliegenden Körnchen sind regelmässig im Farbtone der Polkörperchen gefärbt. Unter den Färbeverfahren sind die WEIGERT'sche Mitosenfärbung und das HEIDENHAIN'sche Eisenalaunhämatoxylinverfahren als Methoden zu empfehlen, die stets klare, wenn auch nicht immer die brillantesten Strukturbilder liefern. Benützt man Farbgemische aus sauren und basischen Farben, so färben sich ebenfalls die genannten Kernbostandtheile distinkt. Die Polköiperchen treton z. B. bei Anwendung des BIONDI'schen Gemisches in grünbläulicher Farbe zu Tage, während der Kernkörperchenhaupttheil sich roth färbt u. s. f. Partielle Chromophilie der Kerne ist bei den bläschenförmig fixirten Zellen eine relativ grosse Seltenheit. Dagegen kann ich mich nicht erinnern, dass diejenigen bläschenförmig fixirten Zellen, welche im Alkoholmethylenblaupräparat nur minimale Mengen von sich intensiv tingirender Substanz enthalten, eine partielle künstliche Schrumpfung des Zellleibes zeigen.

Besteht das Fixirmittel aus zwei oder mehr Reagentien, unter denen sich sowohl Vertreter der genannten vier Fixirmittel, als auch solche aller übrigen heute benützten Vorbehandlungsmedien befinden, so kommt es darauf an, welches Fixirmittel den Ausschlag giebt. So ist z. B. bei Anwendung der Vorbehandlungsflüssigkeit Kalium bichromicum und Sublimat die erstere Substanz für den Ausfall der Fixirung entscheidend, d. h. eine Hälfte sämmtlicher centralen Nervenzellen wird in bläschenförmiger Form fixirt.

Da es hier nur darauf ankommt, mit allem Nachdruck auf die für die histologische Technik der Nervenzellendarstellung fundamentale Thatsache hinzuweisen, dass es Reagentien giebt, welche die Gesammtheit aller centralen Nervenzellen in einem im allgemeinen gleichartigen Nervenzellenbilde fixiren, während die Mehrzahl der heute zur Darstellung von Nervenzellen benützten Fixirmittel nur einen Theil sämmtlicher centralen Nervenzellen in dieser Form wiedergiebt, die andere Hälfte derselben aber in einon bläschenförmigen Zustand überführt, so haben wir keine Ursache, auf die Einzelheiten dieser wichtigen Thatsache einzugehen. Nur auf einen Punkt ist besonders aufmerksam zu machen. Als Reagentien, welche die Gesammtheit aller Nervenzellen in einem ungefähr gleichen mikroskopischen Bilde fixiren, wurden vier Fixirmittel genannt, obschon die Richtigkeit dieser Behauptung noch keineswegs im Einzelnen für die sämmtlichen vier Vorbehandlungsmittel direkt im Mikroskope nachgewiesen werden konnte. Im Grunde genommen ist diese Behauptung nur für die mit Alkohol fixirten Präparate direkt festgestellt. Trotzdem lässt sich die Aufstellung von Formol, Sublimat und Salpetersäure neben Alkohol rechtfertigen, wenn auch zugegeben werden muss, dass einige schwere Bedenken speciell bei der Salpetersäure vorliegen. Bei der Vorbehandlung mit Formol ist zu orinnern, dass mit Vorliebe die Nervenzellen in dem künstlich geschrumpften Zustand fixirt werden; ebonso machen sich noch andere reagentielle Einflüsse geltend, welche die mit Formol fixirten mikroskopischen Bilder bald mehr, bald weniger beeinträchtigen; ohne Frage steht das mit Formol fixirte nervöse Gewebe dem mit Alkohol vorbehandelten am nächsten. Bei der Anwendung des Sublimates

kommt es sehr darauf an, wie lange man fixirt. Bei der Vorbehandlung winziger Gewebsstücke während 20—30 Minuten erhält man andere Präparate als bei der Fixirung von Sublimat während zwölf und mehr Stunden. Die Sublimatpräparate entsprechen wohl im allgemeinen den Alkoholpräparaten, weichen jedoch hinsichtlich der feineren Structurdetails im Nervenzellenkörper von den Alkoholpräparaten ab. Dieser abweichende Charakter gelangt bei den ganz kurz fixirten Schnitten noch am wenigsten zum Ausdruck. Die Salpetersäure jedoch liefert Nervenzellenbilder, die am meisten von den mit Alkohol fixirten Nervenzellen abweichen. Bezüglich der grosszelligen und vieler mittelgrossen Elemente ist nichts zu erinnern. Ohne Frage fixirt die Salpetersäure aber auch zahlreiche kleinzellige und mittelgrosse Zellen, deren Leib im entsprechenden Alkohol-Methylenblaupräparat nur Spuren oder auch gar keine sich intensiv färbende Substanztheile enthält, ebenso wie die grosszelligen Zellen. Andererseits freilich ist nicht zu leugnen, dass diese Angabe bei manchen anderen hierher gehörigen Nervenzellenarten* nicht zutrifft, und dass solche, von der Salpetersäure fixirte Zellarten mikroskopische Nervenzellenbilder liefern, welche in mancher Hinsicht an die bläschenförmig fixirten Nervenzellen erinnern. Aehnliche Bedenken, obschon nicht so schwerwiegender Art, liegen theilweise auch bei der Fixirung mit Sublimat vor.

Wenn wir nun trotzdem diesen vier Reagentien sämmtliche andere Vorbehandlungsmedien gegenüberstellen, so stützen wir uns vor allem auf die wichtige Thatsache, dass von allen Vorbehandlungsmedien diese vier Reagentien allein den im Alkohol-Methylenblaupräparat blass, mittelstark und intensiv sich färbenden Nervenzellensubstanzen gegenüber sich immerhin analog verhalten. Jede Nervenzelle besitzt in ihrem Zellleib zwei durchaus verschiedene Substanzgruppen. Die eine dieser Substanzgruppen zeigt *die bemerkenswerthe Eigenschaft, dass sie sich unter bestimmten Bedingungen mit einer wässriger Farbbasenlösung theils blass, theils mittelstark, theils intensiv tingirt, unter welchen sich gleichzeitig die andere Substanzgruppe nicht färbt.* Wie wir bereits betont haben. entspricht das mit Alkohol fixirte Gewebe am besten diesen Bedingungen. Berücksichtigen wir aber sämmtliche Vorbehandlungsflüssigkeiten, die heute überhaupt zur Darstellung von Nervenzellen benützt werden, so steht doch fest, dass überhaupt nur die genannten vier Reagentien in Betracht kommen können, wenn es sich darum handelt, die Gesammtheit aller centralen Nervenzellen so zu fixiren. dass sie im grossen Ganzen den bestimmten Bedingungen entsprechen, unter welchen die eine Substanzgruppe des Nervenzellenkörpers sich mit Farbbasen färbt, während gleichzeitig die andere Substanzgruppe sich nicht oder doch mit einem Hauche von Farbe imbibirt.

Die histologische Untersuchung der in Bläschenform fixirten Nervenzellen setzt selbstverständlich die allgemeine Anerkennung eines Uebersichtspräparates voraus, auf Grund dessen man die je nach Zellart, Thier, Reagenz und Färbeverfahren nicht nur ausserordentlich verschiedenen, sondern auch fremdartigen Nervenzellenbilder der bläschenförmig fixirten Nervenzellenarten mit den entsprechenden Nervenzellenbildern zu identificiren imstande ist, welche jedem Forscher ebenso wohlbekannt wie sicher und ohne Schwierigkeit zugänglich sind, wenn anders eine gegenseitige Verständigung unter den Histologen erzielt werden soll.

* Ich habe davon Abstand nehmen müssen, die einzelnen in Betracht kommenden Nervenzellenarten namentlich zu bezeichnen, da eine allgemein anerkannte Nomenklatur der Nervenzellenarten, welche eine gegenseitige Verständigung ermöglicht hätte, noch nicht existirt, andererseits aber eine jedesmalige ausführliche Schilderung der strukturellen Kennzeichen der einzelnen Zellarten und aller derartigen Eigenschaften derselben sowie die genaue Angabe ihrer jeweiligen Oertlichkeit viel zu viel Raum beansprucht hätte.

Es steht fest, dass jene Substanzgruppe des Nervenzellenkörpers, welche sich unter bestimmten Voraussetzungen mit Farbbasen nicht färbt. während gleichzeitig die andere Substanzgruppe die Farbbase festhält, Neurofibrillen enthält, welche das BETHE'sche oder APÁTHY'sche Verfahren als scharf gezeichnete, individuell verlaufende, eigenartig gefärbte Fäden zur Darstellung bringt. Eine zweite, ebenso bemerkenswerthe Eigenschaft der Nervenzellenkörper ist das *reciproke Verhalten mikroskopischer Nervenzellenbilder, in denen einmal die Neurofibrillen als individuelle Gebilde des Nervenzellenleibes von der Zellkörpersubstanz sich färberisch scharf abheben, und in denen andererseits die sich mit Farbbasen tingirenden Substanztheile des Zellleibes isolirt gefärbt sind.*

Je vollständiger sämmtliche sich mit Farbbasen tingirenden Substanztheile färberisch elektiv zur Darstellung gelangen, um so klarer heben sich von den gefärbten Zellleibstheilen »ungefärbte Züge« ab, welche, wie gute Neurofibrillenpräparate beweisen, gewissermassen das negative Bild von Neurofibrillenzügen sind. Diese »ungefärbten Bahnen« sind daher als die zuverlässigsten Kriterien für eine vollständige Tinktion der sich mit Farbbasen tingirenden Bestandtheile zu erblicken. Dieses Kriterium ist deshalb von so grosser Bedeutung für den Techniker, als es auch bei den mittelgrossen und kleinzelligen Elementen, in denen die intensiv gefärbten Substanztheile nur andeutungsweise vorhanden sind oder auch ganz fehlen, nicht im Stiche lässt; ja es sind sogar bei wirklich vollständiger Tinktion, auch der sich mit Farbbasen blass färbenden Substanztheile die ungefärbten Bahnen in Kernzellen (karyochrome Nervenzellen) nachweisbar, indem sie sich von dem hier gewöhnlich etwas stärker tingirten Kerninnern abheben und in das dem Kerne anliegende sichtbare Bruchstück des Zellleibes verfolgt werden können.

Je elektiver und vollständiger einerseits die mit Farbbasen tingirbaren Zellleibsbestandtheile, je individueller andererseits die Neurofibrillen gefärbt sind. um so leichter vermag man sich von dem reciproken Verhalten beider Präparate zu überzeugen, und zwar äussert sich dasselbe nicht nur hinsichtlich des Zellleibes und seiner Dendriten, sondern auch hinsichtlich des Zellkernes. In solchen Präparaten findet man niemals beide Elemente des Nervenzellenleibes. nämlich die Neurofibrillen und die sich mit Farbbasen tingirenden Substanztheile gleichzeitig und nebeneinander in ihrer Vollständigkeit tinktoriell dargestellt. Dementsprechend verhalten sich auch die Zellkerne.

Es lässt sich exakt feststellen, dass in den Kernen jener Präparate, in denen die sich mit Farbbasen färbenden Substanzen isolirt zur Darstellung gelangt sind, stets nur die Kernmembran, die im Liningerüst suspendirten Körnchen, sowie der Nukleolus in toto gefärbt ist, während sich das Liningerüst besten Falles nur andeutungsweise, der Kernsaft aber garnicht tingirt. Ja, bei Anwendung gewisser Farbbasen ist in den Kernen jener Zellen, welche grosse Mengen von intensiv mit Farbbasen gefärbten Substanzen enthalten, überhaupt nur die Membran und der Nukleolus intensiv gefärbt, das Kerninnere aber durchaus homogen und ungefärbt. Andererseits steht fest, dass bei reiner Neurofibrillenfärbung die Kernmembran nicht als deutliche Aussenschicht des Kernes zutage tritt, dass das im anderen Präparate nicht oder nur andeutungsweise tingirte Kerninnere in toto gefärbt ist und komplicirte Verhältnisse darbietet, und dass endlich das Kernkörperchen gar nicht oder nur sehr blass tingirt erscheint. Es bestehen also zwischen Neurofibrillenfärbungen, bei denen sich dieselben als individuelle, von den Zellleibssubstanzen verschiedene Formelemente präsentiren, und zwischen den elektiven Färbungen der mit Farbbasen tingirbaren Substanzen des Nervenzellenleibes bestimmte reciproke Verhält-

nisse, welche die ganze Nervenzelle, nicht nur den Zellleib, sondern auch den Zellkern betreffen. Das Gesagte gilt nicht etwa nur für Alkoholpräparate, sondern ganz allgemein für alle Nervenzellen, gleichviel wie sie fixirt und gefärbt sind. Bis jetzt konnte in allen Neurofibrillenpräparaten, in denen die Neurofibrillen sich als von den übrigen Zellleibssubstanzen tinktoriell verschiedene Formelemente haben nachweisen lassen. das reciproke Verhalten bestätigt werden, obschon es sich um Präparate handelte, die technisch in der allerverschiedensten Weise hergestellt wurden; ja sogar in den Quetschpräparaten KRONTHAL's, der die sich mit Farbbasen intensiv tingirenden Substanzportionen motorischer Zellen färbte. und BECKER's. der mit Kupferhämatoxylinlack die Neurofibrillen dieser Zellen darstellte, traten die reciproken Verhältnisse in ebenso klarer Weise hervor, wie etwa in einem BETHE'schen oder APÁTHY'schen Präparate und andererseits in einem mit Formol oder Sublimat vorbehandelten Schnitte, der mit Methylenblau überfärbt und sodann differenzirt wurde.

Es wurde bereits wiederholt darauf aufmerksam gemacht, dass bei der Erforschung des feineren Baues der Nervenzellen die Aufstellung eines allgemein anerkannten Uebersichtspräparates eine unumgängliche Voraussetzung ist, wenn anders eine gegenseitige Verständigung der Forscher auf diesem Gebiete erzielt werden soll. Der Umstand, dass man bis jetzt auch ohne ein solches Präparat sich zu einigen vermochte, macht dasselbe nicht überflüssig. Sobald man von der Gesammtheit aller centraler Nervenzellen ausgeht, ist eben das Problem des feineren Baues der nervösen Zellleibssubstanzen ein ganz anderes, als wenn man sich nur mit der einen oder anderen oder auch mit mehreren grosszelligen und mittelgrossen Zellarten beschäftigt. An dieser Stelle haben wir indes nicht die Nothwendigkeit des Uebersichtspräparates zu erörtern, sondern lediglich die Frage zu beantworten, welches technische Verfahren liefert Uebersichtspräparate, welche nicht nur dem einzelnen Forscher es ermöglichen, sich zurechtzufinden, wenn er ihm gänzlich fremdartige Nervenzellenbilder zu beurtheilen hat, sondern auch dazu dienen sollen, auf dem Gebiete der Nervenzellenanatomie sich gegenseitig zu verständigen. Es liegt auf der Hand, dass diesen Voraussetzungen nur Präparate entsprechen, welche die Gesammtheit aller centralen Nervenzellen stets in demselben mikroskopischen Bilde sichtbar machen, und welche ausserdem jedem Forscher ohne besondere Schwierigkeiten zugänglich sind.

Nach unseren bisherigen Erfahrungen können als Uebersichts- oder Vergleichspräparate nur Schnitte mit solchen Nervenzellenbildern in Betracht kommen, welche entweder die Neurofibrillen oder die mit Farbbasen tingirbaren Substanzen des Nervenzellenleibes isolirt färberisch zur Darstellung bringen. Leider entsprechen die heutigen Neurofibrillenpräparate noch nicht den Bedingungen, welche für ein Uebersichtspräparat unabweisbar sind. Wollen wir daher nicht auf ein Uebersichtspräparat verzichten, so bleibt bei dem derzeitigen Stande der histologischen Technik kein anderer Weg übrig, als ein Verfahren zur Darstellung der Uebersichts-, resp. Vergleichspräparate zu wählen, in dem die mit Farbbasen tingirbaren Zellleibssubstanzen isolirt dargestellt werden können.

Die Grundzüge dieses Verfahrens wurden bereits angegeben: Vorbehandlung des nervösen Gewebes mit Alkohol, Formol, Sublimat — die Salpetersäure scheidet in diesem Falle aus den bereits angegebenen Gründen aus —, Ueberfärbung des erhaltenen Schnittes mit einer wässerigen Lösung einer basischen Anilinfarbe, Entfernung der nicht festhaftenden Farbe durch Auswaschen derselben in Alkohol, bezw. in einer alkoholischen Flüssigkeit. Während die Farbsäuren sich mit allen Theilen des nervösen, in der geschilderten Weise vorbehandelten Gewebes färberisch verbinden

und daher eine diffuse Färbung des ganzen Schnittes ergeben, haften die Farbbasen selbst an den sich mit ihnen tinktoriell verknüpfenden Zellleibssubstanztheilen viel weniger fest, so dass unter Umständen die Farbe vollständig in den Alkohol übertritt. Ja es giebt Farbbasen, welche sofort wieder frei werden, wenn der überfärbte Schnitt in Alkohol oder eine alkoholhaltige Flüssigkeit verbracht wird. Wieder andere Farbbasen haften allerdings so fest an den entsprechenden Zellleibstheilen, dass die Farbe zwar nicht in den Alkohol diffundirt, wohl aber in die weiteren Medien, die zur Fertigstellung des Schnittes nicht entbehrt werden können. So diffundirt die Farbe mit Vorliebe in das Nelkenöl, in sehr viele Originanumölsorten etc., ja sogar in den Balsam, in den der Schnitt eingeschlossen wird.

Wie überaus verschieden die Tinktion ausfällt, geht am besten daraus hervor, dass man, so oft man mit einem neuen basischen Farbstoff Versuche macht und bei solchen Prüfungen die Fixirmittel mit berücksichtigt, regelmässig Ueberraschungen erlebt. Ein wichtiger Faktor ist die Vorbehandlung des nervösen Gewebes. Ist letzteres z. B. nur wenige Minuten mit Sublimat vorbehandelt worden, so verbinden sich die entsprechenden Zellleibstheile anders mit der Farbbase, als wenn die Fixirung viele Stunden gedauert hat. Ebenso wird die Färbung durch etwaige Einbettungen des vorbehandelten Gewebes beeinflusst. Es ist durchaus nicht gleichgiltig, ob man die verschieden fixirten Gewebe ohne Einbettung oder in Celloidin oder Paraffin etc. eingeschlossen schneidet und färbt. Auch die physikalische Beschaffenheit des Schnittes, der Umstand, ob die Oberflächen völlig glatt sind u. s. w., sodann die Thierart, das Alter der Thiere, vor allem aber die jeweilige Nervenzellenart sind Faktoren, die bei dem Zustandekommen der Färbung eine deutliche Rolle spielen. Berücksichtigt man gar erst die im Alkoholmethylenblaupräparat sich nur mit einem Hauche von Farbe, andere, die sich stärker (mittelstark), und endlich die sich intensiv färbenden Zellleibsbestandtheile der verschiedenen Nervenzellenarten, so ist es fast unmöglich, die ausserordentlich verschiedenartigen Färbeergebnisse verschiedener Farbbasen auseinander zu halten. Auffallend ist dabei der relativ geringe Einfluss der Koncentration der wässerigen Farbbasenlösung.

Im allgemeinen haften jene Farbbasen, welche nicht sofort in den Alkohol diffundiren, am festesten an den sich im Alkoholmethylenblaupräparat intensiv tingirenden Zellbestandtheilen Es giebt aber auch unter den sich im Alkoholmethylenblanpräparat nur mit einem Hauche von Farbe imbibirenden Zellleibstheilen Anordnungen, mit denen sich die Farbe ebenso fest verknüpft wie mit den intensiv tingirten Substanzen. Das ist aber nur die eine Seite der so überaus verschiedenen Ergebnisse der Färbung mit Farbbasen des mit Alkohol, Formol, Sublimat vorbehandelten nervösen Gewebes nach dem Principe der Ueberfärbung der Schnitte mit wässerigen Farbbasenlösungen und darauffolgender Differenzirung in alkoholischen Flüssigkeiten. Jene Präparate, in denen die sich mit Farbbasen tingirende Substanzgruppe des Zellleibes sämmtlicher centralen Nervenzellen färberisch zur Darstellung gelangt, während gleichzeitig die andere, die Neurofibrillen enthaltende Substanzgruppe ungefärbt bleibt, sind ganz besonders dadurch ausgezeichnet, dass bei ihrer Herstellung die Farbbasen sofort aus dem nervösen Gewebe in den Alkohol diffundiren und sich bloss mit Kernbestandtheilen von Glia- und Gefässwandzellen färberisch verbinden. Allein bei der Ausführung der Färbung mit den einzelnen Farbstoffen erhält man je nach der benützten Farbbase und dem Vorbehandlungsmittel die allerverschiedensten Zellbilder, und zwar wird das Ergebniss der Färbung auch nach dieser Seite hin von denselben Faktoren beeinflusst, wie die Tinktion der sich mit der Farbbase färbenden Substanzgruppe des Zellleibes. So bleibt die Farbbase z. B. manchmal gleichmässig am nervösen

Gewebe haften; in einem anderen Falle erhält man gar eine fleckige Färbung desselben; in wieder anderen Fällen ist das Ergebniss eine eigenthümliche Inversion der Färbung, wobei sich die gefärbten markhaltigen Fasern deutlich von dem übrigen diffus tingirten Gewebe abheben; oft sind nur die grosskalibrigen Axencylinder, und zwar manchmal in scharf lokalisirter Weise tingirt. In dem einen Falle findet man diese Abweichungen nur an der Peripherie des Schnittes, in anderen Fällen nur im Grau und in wieder anderen Fällen nur in der weissen Substanz.

Statt der Axencylinder können manchmal auch die Gliafasern die Farbe festhalten. Allerdings sind es fast immer nur grobkalibrige Gliafasern, die sich zufällig in der periphersten Zone des Schnittes befinden. In der Regel kombiniren sich diese Befunde mit den allerverschiedensten Abweichungen in der Färbung der Nervenzellen. Doch kann letztere auch leidlich gut sein. Farbbasen, die sofort in den Alkohol diffundiren, bleiben nur ausnahmsweise am nervösen Gewebe, hier und da auch an den grosskalibrigen Axencylindern bestimmter Orte haften.

Bei der Fixirung mit Sublimat, namentlich wenn dasselbe 12 und mehr Stunden auf's Gewebe einwirkt, imbibirt sich das nervöse Gewebe sogar mit besonderer Vorliebe bald mehr, bald weniger mit der jeweiligen Farbbase, vorausgesetzt, dass letztere auch an den entsprechenden Nervenzellenbestandtheilen festhaftet. Ebenso gerne färben sich auch bei dieser Vorbehandlung die Axencylinder, seltener die Markscheiden. So lange die Tinktion des nervösen Gewebes nur in einem Hauche von Farbe besteht. und die Nervenzellenfärbung gelungen ist, wird die Güte der Präparate im allgemeinen nur relativ wenig beeinträchtigt, auch wenn ausserdem noch einige Axencylinder mit oder ohne Markscheiden tingirt sind. Allein nur allzu häufig beobachtet man in solchen Fällen, dass sich nicht nur das nervöse Gewebe, sondern ausserdem auch die sich mit Farbbasen nicht tingirende Substanzgruppe der Nervenzellenkörper in gleichem Farbtone färbt. Bei der Vorbehandlung mit Formol bleibt die Farbe weniger an der grauen. als an der weissen Substanz haften. Uebrigens können die geschilderten Phänomene auch bei der Fixirung mit Alkohol beobachtet werden.

Diese Darstellung ist keineswegs erschöpfend. Sie genügt aber zur Charakterisirung der ungleichen Tinktionsergebnisse des Verfahrens nach dem Princip der Ueberfärbung mit wässerigen Farbbasenlösungen u. dergl. bei voraufgegangener Vorbehandlung des nervösen Gewebes mit Alkohol, Sublimat und Formol. Jegliche wesentliche Aenderung dieses Färbeverfahrens, z. B. Ersatz der wässerigen Farbbasenflüssigkeit durch alkoholische Medien, oder Differenzirung der gefärbten Schnitte in wässerigen Lösungen u. s. f. ergiebt auch ein wesentlich anderes Tinktionsresultat. Trotzdem man aber bei der Färbung nach dem Princip der Ueberfärbung mit wässerigen Farbbasenlösungen u. s. w. so überaus verschiedene Resultate erhält, kann man sich doch bei der Verfolgung des Färbevorgangs unter dem Mikroskop überzeugen, dass sämmtliche Farbbasen die Tendenz zeigen, nur an der einen Zellleibssubstanzgruppe sowie an den Kernbestandtheilen, nicht aber an den neurofibrillenhaltigen Nervenzellentheilen fest zu haften.

Die Versuche, nicht nur stets das gleiche Nervenzellenbild von sämmtlichen centralen Nervenzellen zu erhalten, sondern auch dieses stets gleiche Tinktionsergebniss auf dem Wege eines leicht ausführbaren Verfahrens zu erzielen, hatten zunächst keinen Erfolg. Unverkennbar wurden die Färbungsergebnisse durch Ursachen beeinflusst, deren Natur uns auch heute noch gänzlich unbekannt ist. So kann z. B. von Schnitten durch den Thalamus des gleichen Thieres der eine bei der Ueberfärbung mit einer wässerigen Lösung von basischem Fuchsin und nachfolgender Differen-

zirung in Alkohol und Weiterbehandlung des Schnittes mit Nelkenöl-Benzin, Kanadabalsam ein tadelloses Präparat liefern, während der zweite in keiner Weise den Anforderungen entspricht, indem die Farbe fast vollständig aus dem Schnitt diffundirt ist, oder ein dritter Schnitt schmutzig roth und diffus gefärbt erscheint, obschon alle drei Schnitte auf das sorgfältigste in gleicher Weise hergestellt werden.

Bei einer genauen, mehrere Jahre hindurch fortgesetzten Prüfung, wobei stets nicht nur die Vorbehandlung, die Präparate und die einzelnen basischen Farben, sondern auch der Modus des Färbeverfahrens im einzelnen berücksichtigt wurde, ergab sich, dass bei der Vorbehandlung der Präparate mit 96%igem Alkohol die gleichmässigsten Nervenzellenbilder erzielt wurden, vorausgesetzt, dass die Schnitte aus uneingebetteten Fixirblöcken gewonnen waren.

Die in Celloidin oder Paraffin eingeschlossenen Alkoholpräparate ergaben ebenso wie die mit Sublimat oder Formol vorbehandelten Gewebsstücke viel zu ungleichmässige Resultate, als dass man dieselben als Uebersichtspräparate hätte verwenden können. Die Einbettung scheint zwar allerdings auch die mit Sublimat oder Formol fixirten Gewebsstücke zu beeinflussen; jedenfalls aber ist der Unterschied zwischen den aus eingebettetem und nicht eingebettetem Material gewonnenen Präparaten so geringfügig, dass man mit Rücksicht auf die Schwierigkeiten der Schnittherstellung aus uneingebetteten Sublimat- und Formolpräparaten letztere besser in Celloidin oder auch in Paraffin einbettet. Für die Salpetersäure gilt das gleiche. Ganz anders verhält sich das mit Alkohol vorbehandelte Gewebe. Alle Vorzüge, die das Alkoholpräparat den übrigen Reagentien gegenüber besitzt, verliert es infolge der Einbettung, wobei es gleichgiltig ist, ob man in Celloidin oder Paraffin einschliesst. Die Thatsache, dass man auch aus eingebettetem Alkoholmaterial tadellose Präparate erhalten kann, ist kein Beweis dafür, dass die Einbettung zweckmässig ist. Unter Umständen erhält man auch aus mit Sublimat und Formol vorbehandeltem Materiale einwandfreie Nervenzellen- und Gewebsbilder. Handelt es sich um ein technisches Verfahren, das stets die gleichen Nervenzellenbilder durchaus zuverlässig färberisch zur Darstellung bringen soll, so sind in Paraffin und Celloidin eingebettete Alkoholpräparate nicht zu benützen.

Zahllose Versuche führten schliesslich zu einem Färbeverfahren, dessen Präparate ziemlich den Voraussetzungen entsprechen, die wir an ein Uebersichtspräparat stellen. Es ist die Färbung mit Seifenmethylenblau, Differenzirung der Schnitte in Anilinölalkohol, Weiterbehandlung des Schnittes mit Cajeputöl-Benzin-Xylolkolophonium. (Beschreibung des Verfahrens im pathologischen Theil.)

Vollkommen identische Nervenzellen und Gewebsbilder liefert auch das Alkohol-Methylenblaupräparat nicht, weil uns noch gänzlich unbekannte Einflüsse bei der Herstellung der Präparate unberechenbare Phänomene hervorrufen. Glücklicherweise sind uns dieselben zum weitaus grösseren Theil bekannt.

In dieser Beziehung ist vor allem die künstliche Schrumpfung der Nervenzellen anzuführen; dieselbe haben wir aber bereits erörtert. Ebenso wie die künstliche Schrumpfung ist die sogen. »künstliche Schwellung« ein artificielles Phänomen, das übrigens nicht bei der Alkoholfixirung allein, sondern auch bei der Vorbehandlung des nervösen Gewebes mit Sublimat, Formol, Salpetersäure, Pikrinsäure, Chromsäure, Flemming'scher, Herrmann'scher u. s. w. Lösung beobachtet wird. Am häufigsten tritt es jedoch in Alkoholpräparaten auf. Der Zellkörper erscheint etwas gequollen; die Fortsätze fehlen; die Struktur des Zellleibes und die

des Kernes ist verschwunden; der ganze Zellleib zeigt eine eigenartige, schwer zu beschreibende, gleichartige Zeichnung; der Zellleib ist in toto nur blass gefärbt; manchmal ist noch der Nukleolus in blasser Zeichnung und wie aufgebläht sichtbar. Das Auftreten der künstlichen Schwellung ist gänzlich unberechenbar. In einem Präparate finden sich sehr viele Zellen in diesem Zustand; im anderen nur einzelne Elemente. Mit Vorliebe tritt sie in kleinen Häufchen auf; meist sind nur zwei, manchmal aber auch 5—6 und mehr einander benachbarte Zellen derart artificiell verändert. Hier und da zeigen auch die in unmittelbarer Nähe solcher Zellen befindlichen Gliakerne ganz ähnliche, aber noch nicht aufgeklärte Veränderungen.

Ein weiteres durch Alkohol bedingtes Phänomen sind die »blasigen Zellen«. Die Lieblingsstätte dieser Veränderung sind die kleinen Pyramidenzellen der zweiten MEYNERT'schen Schicht in der menschlichen Rinde. Analoge Formen finden wir jedoch auch an anderen Orten und bei den verschiedenen Thieren. Es steht fest, dass man ganz ähnliche Zellbilder auch experimentell herbeiführen kann, wenn man das Gewebe zuerst mit Wasser imbibirt und sodann den 96%igen Alkohol einwirken lässt. Die blasigen Zellen der zweiten Cortexschicht des Menschen mit ihren dunkel tingirten, verkleinerten Kernen sind wohl jedem Fachmann bekannt, so dass ich auf ihre Schilderung verzichten kann. Nahe verwandt mit diesen artificiellen Zellzuständen sind Phänomene, die man bei der Alkoholvorbehandlung des nervösen Gewebes wohl niemals ganz vermisst. Andeutungen dieser Zustände werden zuweilen auch bei der Salpetersäure- und Sublimatvorbehandlung beobachtet. Erstens handelt es sich um Nervenzellen, deren mit Farbbasen tingirbaren Substanztheile in der Umgebung des Kernes netzförmig angeordnet sind. Einige der Maschenräume dieses aus färbbarer Substanz bestehenden Netzwerkes, sehr oft auch nur ein einziger Maschenraum, sind im extremen Grade erweitert; oft ist nicht mehr zu unterscheiden, ob ein von Netzwerkbälkchen umrahmter Maschenraum vorliegt, oder ob der absolut ungefärbte, homogene Inhalt des vermutheten Maschenraumes mit der netzförmig angeordneten Zellleibssubstanz nichts zu thun hat, sondern vielmehr ein Theil des pericellulären Schrumpfraumes ist. Ein zweites artificielles Phänomen betrifft die Abreissung einer schmalen peripheren Schicht des Nervenzellenleibes, welche an der Wand des pericellulären Schrumpfraumes festhaftet und denselben förmlich austapezirt. Meist ist diese Abreissung, die auch bei fast allen anderen Vorbehandlungsmedien beobachtet wird, nur partiell. Manchmal verbinden feine blasse Fäden die abgetrennte Schicht mit dem übrigen Zellleib. Selbstverständlich ist dieses Phänomen nur dann zu erkennen, wenn die abgetrennte Schicht mit Farbbasen tingirbare Substanzen enthält.

Ueber eine weitere Veränderung der Nervenzellen, die hauptsächlich bei den kleineren und mittelgrossen Pyramiden des menschlichen Cortex beobachtet wurde, steht die Entscheidung noch aus; der Zellleib solcher Elemente bietet äusserlich ganz ähnliche Formen dar wie bei der künstlichen Schrumpfung, unterscheidet sich aber von letzterer insoferne, als die intensiv tingirte Zellleibssubstanz von lauter winzigen Hohlräumen durchbrochen ist und der homogene Kern entschieden gegen den Spitzenfortsatz zugespitzt erscheint und ein ovales, deutlich vergrössertes Kernkörperchen besitzt; möglicherweise handelt es sich gar nicht um eine artificielle, sondern um eine pathologische Veränderung, da ganz ähnliche Zellzustände sicher auf krankhaften Veränderungen beruhen.

Endlich ist noch auf eine Anzahl sehr verschiedenartiger artificieller Abweichungen aufmerksam zu machen, die ohne Zweifel auf zum grössten Theile noch gänzlich unbekannte Einflüsse bei der Vorbehandlung der Ueber-

sichts-, resp. Vergleichspräparate zurückzuführen sind. So beobachtet man sehr häufig, dass die peripherste Schichte des mit 96%igem Alkohol vorbehandelten Fixirblockes allerlei Abweichungen von dem als Norm bezeichneten mikroskopischen Bilde darbietet. Unter dem normalen mikroskopischen Bilde wird nämlich das mikroskopische Bild des Aequivalentpräparates verstanden (vergl. den pathologischen Theil). In dieser peripheren Zone des Fixirblockes begegnen uns vor allem zahlreiche künstlich geschrumpfte Zellen; häufig zeigt das nervöse Gewebe dieser Zone eine blasse diffuse Färbung; in anderen Fällen ist eine schmale Randzone dieser peripheren Schicht sogar sehr stark tingirt; manchmal sind auch starke Gliafasern, namentlich aber grosskalibrige Axencylinder ziemlich intensiv gefärbt. Besonders häufig begegnen uns bald mehr, bald weniger, manchmal aber auch grosse Massen von eigenartigen kugeligen oder geschichteten, sehr verschiedenartig gefärbten, theils auch ungefärbten Gebilden, auf die wir noch zurückkommen. Jedenfalls geht aus diesen Erfahrungen hervor, dass es nicht zweckmässig ist, den Fixirblock bei der Vorbehandlung des nervösen Gewebes mit 96%igem Alkohol zu klein zu nehmen. Im Gegensatz zur Fixirung mit FLEMMING'scher Lösung, Sublimat etc. mache man es sich zur Regel, falls nicht schon die Grösse und Form der Fixirblöcke infolge der Bauverhältnisse feststeht (wie z. B. in den Spinalganglien, bei denen thatsächlich die der Kapselwand anliegenden Zellen in der Regel künstlich geschrumpft sind), den Fixirblock nicht unter 1,0 × 1,2 × 1,2 Cm. auszuschneiden. Selbst wenn diese Masse beträchtlich überschritten werden, ist es kein Unglück und immer noch besser als zu kleine Fixirblöcke.

Aber nicht nur in der peripheren Schicht der Fixirblöcke treten Abweichungen vom Aequivalentbild auf, sondern zuweilen auch an anderen Orten. Ist jedoch das Uebersichtspräparat lege artis hergestellt worden, so beeinträchtigen sie das mikroskopische Bild der Nervenzellen in kaum nennenswerther Weise.

Hier und da findet man auch im Alkoholseifenmethylenblaupräparat Andeutungen der bereits erwähnten Inversion der Färbung; in anderen Präparaten sind grosskalibrige Axencylinder, meist in einem scharfumschriebenen Gebiete zwar blass, aber doch deutlich gefärbt; in seltenen Fällen ist auch eine leise Andeutung einer diffusen Färbung des Grundgewebes zu beobachten, ohne dass die Axencylinder stärker tingirt erscheinen.

Die unangenehmste Abweichung vom Aequivalentbild aber besteht in der Invasion grosser Mengen der bereits erwähnten kugeligen Gebilde in das Gewebe, speciell aber in die weissen Substanztheile. In letzterem Falle können auch die Markscheiden eine leichte ungleichmässige Tinktion darbieten. Diese Invasion kugeliger Gebilde ist aber nicht eine ausschliessliche Eigenthümlichkeit der mit Alkohol vorbehandelten Präparate; solche Gebilde können nämlich in allen Präparaten der nervösen Centralorgane auftreten, die, gleichgiltig wie sie auch vorbehandelt worden sind, mit Alkohol längere Zeit in Berührung gekommen sind. Das Vorbehandlungsreagenz spielt dabei allerdings eine wichtige Rolle: mit Chromsäure vorbehandelte Objecte zeigen sie entweder gar nicht oder nur in geringem Masse, das mit Formol oder Salpetersäure oder mit Sublimat vorbehandelte Gewebe enthält solche schon viel regelmässiger; am häufigsten aber treten sie bei der Alkoholbehandlung selbst auf. Bei der Herstellung von Uebersichtspräparaten sammeln sie sich selten in sehr grossen Mengen an, da Anilinölalkohol und das Cajeputöl diese Gebilde entweder in Lösung überführt oder so beeinflusst, dass sie ihre Farbe abgeben und sich auch optisch nicht mehr vom übrigen Gewebe abheben. Ausser Anilinölalkohol und Cajeputöl giebt es noch viele andere Stoffe, welche derartige kugelige

Gebilde, die sich in den Schnitten etwa angesammelt haben, in Lösung überführen, resp. unsichtbar machen, z. B. längeres Verweilen in starkem (99%), besonders angewärmtem Alkohol, viele ätherische Oele, ganz speciell angewärmtes Nelkenöl u. s. f.

Jedenfalls steht so viel fest, dass diese Gebilde aus den Markscheiden stammende Substanzen sind, welche infolge der Einwirkung des Alkohols frei werden und das Gewebe überschwemmen. Man kann zeigen, dass auch die mit Chromsäure, Formol, Sublimat u. s. w. vorbehandelten Markscheiden dem zerstörenden Einfluss des Alkohols nicht widerstehen. Die mikroskopische Technik müsste daher ein Einbettungsverfahren für die Markscheidenpräparate besitzen, bei welchem Alkohol überhaupt nicht oder doch nur ganz vorübergehend zur Anwendung gelangt.

Behandelt man einen Fixirblock mit 96%igem Alkohol, so kann man sich leicht überzeugen, dass der Alkohol, den man nach 24 Stunden entfernt, mit Wasser vermischt, sich mehr oder weniger stark milchig trübt. Es besteht also kein Zweifel, dass der Alkohol dem Fixirblock Substanzen entzogen hat, die sich in ihm gelöst vorfinden; zweitens ist sicher, dass auch die erwähnten kugeligen Gebilde aus dem Fixirblock stammen, jedoch in Alkohol unlöslich sind und im Gewebe sich ansammeln, speciell in markreichen Partien des Fixirblockes und in seiner Randzone. Aus den Ergebnissen verschiedener Untersuchungen geht sicher hervor, dass die erwähnten kugeligen Gebilde sowohl wie auch die im Alkohol gelösten Stoffe den Markscheiden entstammen. Daraus folgt, dass bei der Fixirung mit 96%igem Alkohol lebhafte diosmotische Vorgänge sich einstellen und dass eine Dekomposition der Markscheiden erfolgt; es ist nicht unwahrscheinlich, dass die oberflächliche, rasch hart werdende Zone des Fixirblockes in der ersten Zeit der Fixirung wie eine Membran wirkt, die die kugeligen Gebilde nicht durchlässt.

Wir verfolgen nunmehr das Verhalten eines Fixirblockes, dessen Alkohol nach den ersten 24 Stunden erneuert wurde und ruhig stehen bleibt. Lange Zeit beobachtet man nichts Auffallendes. Nach einigen Wochen jedoch fühlt sich der Alkohol seifenartig an und zeigt einen penetranten widerlichen Geruch; zahlreiche glänzende Blättchen von Cholestearin sind in ihm suspendirt; der Boden des Glases, das Filtrirpapier, auf dem der Fixirblock ruhte, und letzterer selbst sind über und über mit einer schmierigen Schicht bedeckt, welche, wie das Mikroskop und die chemische Prüfung zeigt, grösstentheils aus Cholestearin besteht. Mit Wasser vermischt schäumt der Alkohol auf und ist undurchsichtig weiss wie Milch; die Oberfläche des Fixirblockes erinnert an das bekannte Bild der Ependymitis granulosa der Paralytiker. Bei genauerem Zusehen erblickt man eigenartige, sagoperlenartige Kügelchen, die sich deutlich vom Gewebe abheben und ein wenig über das Niveau der Oberfläche des Fixirblockes emporragen. Der Durchmesser der Kügelchen beträgt 0,1 – 1,5 Mm. Auch auf dem Durchschnitt ist das Gewebe von diesen Gebilden durchsetzt, namentlich an markhaltigen Stellen des Fixirblockes. Dabei hat derselbe seine schöne Konsistenz eingebüsst; zwar fühlt er sich noch im ganzen hart an, aber an den Rändern giebt das Gewebe dem Drucke des Fingers nach; er besitzt gewissermassen die Konsistenz von Leder; dünne Schnitte kann man nicht mehr herstellen. Ausserdem ist der Fixirblock ausgesprochen gelblich verfärbt. Die aus einem solchen Fixirblock gewonnenen Schnitte zeigen bald mehr, bald weniger artificielle Erscheinungen; namentlich aber enthalten sie unzählige der oben erwähnten kugeligen Gebilde, welche mit den sagoperlenartigen Kügelchen identisch — und theils in toto, theils nur theilweise und zwar in mannigfaltiger Weise gefärbt sind; bemerkenswerth ist ihr häufiges Auftreten in den perivasculären Schrumpfräumen.

Ein Fixirblock, den man in ganz derselben Weise behandelt, d. h. sich selbst überlässt, jedoch sorgfältig vor dem Tageslicht schützt, bietet denselben Befund; dagegen zeigt er nur einen leichten Stich ins Gelbliche, während der dem Tageslicht ausgesetzte Block eine deutlich schmutzig gelbliche Farbe annimmt.

Bewahrt man eine Anzahl Fixirblöcke, nachdem sie in regelrechter Weise gehärtet wurden, zusammen in einem Gefässe auf, so dass auf je einen Fixirblock nur eine kleine Menge 96%igen Alkohols sich vertheilt, die aber in der Folge nicht mehr erneuert wird, so zeigen sich schon nach wenigen Wochen die extremsten Grade der geschilderten Erscheinungen. Die Blöcke haben nun eine weiche Konsistenz, sind aber zähe sowie stark gelblich gefärbt. Bei völligem Lichtabschluss ist jedoch die Farbe nur wenig verändert. Schnitte können erst dann wieder hergestellt werden, nachdem die einzelnen Blöcke mit frischem 96%igen Alkohol behandelt worden sind; doch wird das Konsistenzmaximum nicht mehr erreicht. Die mikroskopischen Bilder solcher Schnitte lassen in jeder Beziehung viel zu wünschen über.

Behandelt man jedoch einen oder viele Fixirblöcke, nachdem sie ihr Konsistenzmaximum erreicht haben, in der Weise weiter, dass man den 96%igen Alkohol, gleichviel ob reichliche oder nur spärliche Mengen desselben für je einen Block bemessen sind, so oft erneuert, so oft er sich seifig anfühlt, oder sobald er, mit Wasser vermischt,

deutlich opalescirt, so kann man die Blöcke unbegrenzt lange aufbewahren, ohne dass sie, obschon dem Tageslicht ausgesetzt, sehr gelb werden und das Konsistenzmaximum einbüssen oder unbrauchbare mikroskopische Präparate geben. Das Konsistenzmaximum bleibt allerdings nicht überall erhalten; diejenigen Theile eines Fixirblockes, welche ausschliesslich aus Markfasern bestehen, erreichen ihr Konsistenzmaximum mit dem Eintritt der völlig homogenen Konsistenz in allen Theilen des Fixirblockes. Sobald dieses der Fall ist, nimmt ihre Konsistenz langsam ab. So bewahren z. B. bei regelrechter Behandlung die Fixirblöcke aus dem Rückenmark innerhalb der grauen Substanz ihr Konsistenzmaximum dauernd, während die Konsistenz der äusseren Markmantel schon im Verlaufe weniger Tage langsam abzunehmen pflegt.

Eine regelrechte Aufbewahrung des Gewebsblockes verschlingt daher ungeheure Mengen 96%igen Alkohol. Man erspart dadurch, dass man viele Blöcke in einem Glas mit wenig Alkohol aufbewahrt, nicht Alkohol; denn dieser muss eben in diesem Falle sehr oft erneuert werden. Je länger die Gewebsblöcke in Alkohol verweilen, um so länger werden die Intervalle, in denen die Flüssigkeit zu erneuern ist. Es dauert aber einige Jahre, bis der Gleichgewichtszustand eintritt, d. h. bis die Markscheiden keine Substanzen mehr besitzen, die in den Alkohol, bezw. ins Gewebe übertreten. Von da an hat man nur noch dafür zu sorgen, dass der Wassergehalt des 96%igen Alkohols sich nicht vermehrt. Eine Gelbfärbung des Gewebsblockes ist dann ebenfalls nicht mehr zu befürchten.

Diese Erfahrungen haben zu der Ermittelung von zwei neuen Bestandtheilen des Nervenmarkes geführt. Es werden bei der Behandlung eines Fixirblockes dem Nervenmarke nicht nur ungeheure Mengen von Cholestearin, Protagon und Lecithin entzogen, sondern noch zwei andere Körper, die N- und P-haltig sind. Leider ist nur der eine genauer bekannt. Trocken stellt er eine weissliche Masse dar, die, vor Luft geschützt, lange ihre weisse Farbe beibehält, dem Lichte ausgesetzt, aber bald eine blassgelbe Färbung annimmt. Dieser Körper löst sich in Aether, Benzol und Chloroform, wird aber durch Alkohol niedergeschlagen (Blum-Zuelzer; Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. XXVII, pag. 255). Wissen wir auch von dem Chemismus bei der Fixirung und Erhärtung der Aequivalentbilder nur wenig, so steht doch fest, dass der Alkohol die Markscheiden angreift, denselben Stoffe entzieht und sich mit denselben sättigt, und dass der mit diesen Stoffen gesättigte Alkohol verderblich auf die in ihm befindlichen Gewebsblöcke insoferne einwirkt, als die Konsistenz derselben verloren geht und sich zahlreiche Abweichungen von den Aequivalentbildern einstellen. Ein Theil der den Markscheiden entzogenen Stoffe ist unlöslich in Alkohol und tritt in Form von eigenartigen kugeligen, sich verschiedenartig tingirenden Gebilden auf, die sich im Gewebe anhäufen und hier zu irrthümlichen Deutungen Anlass geben können. Sie haben die Tendenz, aus dem Inneren des Gewebsblockes an die Oberfläche zu treten, und nehmen, nachdem sie auf eine noch nicht aufgeklärte Weise den Gewebsblock verlassen haben, an der Bildung des schmierigen Bodensatzes theil. Diese Gebilde verursachen die gelbe Verfärbung der Gewebsblöcke. Die Schädigung der Gewebsblöcke kann dadurch leicht vermieden werden, dass man den Alkohol durch frischen ersetzt, bevor er sich mit den löslichen Markscheidenprodukten gesättigt hat.

Wie schon erwähnt, widerstehen auch die mit Chromsäure, Pikrinsäure, Formol, Sublimat, Salpetersäure, Osmiumsäure, Flemming'scher Lösung u. s. w. vorbehandelten Markscheiden nicht dem Einfluss des Alkohols. Es ist dies eine für die histologische Technik überaus wichtige Thatsache, nur werden die in verschiedener Weise vorbehandelten Markscheiden vom Alkohol in sehr verschiedenem Grade angegriffen. Das langsam, nur in Kaliumbichromatlösung erhärtete nervöse Gewebe erweist sich äusserst widerstandsfähig. Dagegen verhält sich das mit Osmiumsäure fixirte Gewebe genau so wie das frische Gewebe; auch die mit Formol, Salpetersäure und Sublimat vorbehandelten Gewebsstücke zeigen nicht nur die erwähnten kugeligen Gebilde, sondern auch die übrigen Stoffe, wenn sie mit Alkohol in Berührung kommen. Die mit Chromsäure, Flemming'scher Lösung behandelten Markscheiden widerstehen etwas stärker; bei Vorbehandlung mit Pikrinsäure dagegen liefert der Alkohol wieder reichliche Zerfallsprodukte. Wichtig ist, dass die Aufbewahrung von in Celloidin eingeschlossenen Präparaten in 80%igem Alkohol ebenfalls schon ausreicht, um einen Zerfall der Markscheiden und dessen Folgen herbeizuführen.

Was nun die kugeligen Gebilde selbst betrifft, so ist es einfach unmöglich, die vielseitigen Formen derselben ohne Hilfe von Abbildungen kurz zu schildern. Ebenso verschiedenartig wie ihre äussere Form sind ihre färberischen Eigenschaften. Jedenfalls giebt es welche, die sich sowohl mit Säuren wie mit Basen färben. In Eisenhämatoxylin oder Kupferhämatoxylin-

lacken färben sie sich vom tiefsten Schwarz bis zum hellsten Grau. Auch bei specifischen Färbungen (Gliafärbung, Fibrinfärbung, Neurofibrillenfärbung etc.) nehmen sie bald einen helleren, bald einen tieferen, bald den gleichen Farbton an. Andere färben sich nur partiell; es giebt Kugeln mit intensiv gefärbten Rändern, wobei die Farbe allmählich gegen das Centrum zu abblasst; andere Färbungen zeigen deutliche Schichten. Gewisse kugelige Gebilde färben sich nicht, resp. in der Farbe des diffus tingirten Grundgewebes, heben sich aber in der Regel sehr deutlich von diesem ab. Die meisten sind homogen, andere sind körnig, wieder andere vakuolig; viele haben Sprünge oder Risse, andere zeigen eine exquisite Schichtung, so wie man die sogenannten Corpora amylacea, welche vielleicht mit diesen Gebilden — wenigstens zum Theil — identisch sind, darzustellen pflegt.

Auch in den nicht ursprünglich mit Alkohol vorbehandelten Gewebstheilen finden sich die Gebilde mit Vorliebe am Rande der Schnitte, ferner zwischen den Faserbündeln der Markmassen und endlich in den perivaskulären Räumen. Ob derartige aus den Markscheiden stammende Substanzen auch auf die nicht mit Alkohol fixirten Gewebsstücke nachtheilig einwirken, ist noch nicht festgestellt.

Unter Berücksichtigung der Thatsache, dass die mit Alkohol vorzubehandelnden Gewebsstücke unmittelbar nach dem Einlegen in Alkohol von den Zerfallsprodukten der Markscheiden überschwemmt werden, die unter der Einwirkung des 96%igen Alkohols sofort frei werden, empfiehlt es sich, die Fixirblöcke nicht sofort nach Eintritt des Konsistenzmaximums, das nach 2-, höchstens 3mal 24 Stunden bei wiederholtem Wechseln des Alkohols sicher erreicht wird, in Schnitte zu zerlegen, sondern erst am 5. Tage nach dem Einlegen, nachdem durch Wechseln des Alkohols die grösste Menge der das Gewebe überschwemmenden Markscheidenzerfallsprodukte entfernt ist. Wenn nothwendig, kann man unter Aufwendung von sehr viel Alkohol schon nach 36 Stunden und selbst früher noch die Schnitte herstellen. Selbstverständlich sind Präparate, die viel Mark enthalten (z. B. Rückenmark) späterhin schlecht zu schneiden, indem im Nervenmark infolge der Einwirkung des Alkohols sehr bald schon das Konsistenzmaximum allmählich sinkt. Endlich sei hier noch betont, dass man unter keinen Umständen das Gewebe in Celloidin oder Paraffin einbetten darf, wenn man Uebersichtspräparate erzielen will.

Das Uebersichtspräparat ist natürlich ebenso Gegenstand der histologischen Forschung, wie z. B. ein mit Flemming'scher Lösung vorbehandeltes und in Celloidin oder Paraffin eingebettetes Präparat. Für das Studium der sich mit Farbbasen tingirenden Substanzen kommen in erster Linie Verfahren in Betracht, bei denen das nervöse Gewebe mit Alkohol, Formol, Sublimat und Salpetersäure und mit Mischungen dieser Reagentien vorbehandelt wird und der daraus gewonnene Schnitt nach dem Princip der Ueberfärbung mit wässerigen Farbbasenlösungen und Differenzirung der Schnitte mit alkoholhaltigen Flüssigkeiten und Weiterbehandlung mit Oelen und Balsam tingirt wird. In zweiter Linie sind Kombinationsfärbungen anzuwenden. Das Gewebe wird in derselben Weise fixirt, aber mit Mischungen von Säuren und basischen Farben (Triacidgemisch nach Ehrlich, Biondi und Rosin u. s. w.) gefärbt. Oder es wird zuerst mit der Farbbase, resp. Farbsäure und dann erst mit der Farbsäure, resp. Farbbase tingirt. Das Färbungsprincip ist entweder das gleiche oder aber man wendet statt alkoholischer Lösungen wässerige Flüssigkeiten zur Differenzirung der sowohl mit Farbbasen wie mit Farbsäuren überfärbten Schnitte an, oder differenzirt zuerst mit einer wässerigen und dann mit einer alkoholischen Flüssigkeit; zu den Farbbasen, die sich ziemlich fest mit der einen Substanzgruppe verbinden, gehören basisches, gross-krystallinisches

Fuchsin (Diamantrubinfuchsin), Dahlia, Thionin, Toluidinblau, Neutralroth. In dritter Linie sind die zahlreichen Methoden der modernen Histologie zu nennen.

Zur Darstellung der ungefärbten Bahnen eignet sich am besten das Alkohol-Seifenmethylenblauverfahren.

Um die Neurofibrillen sichtbar zu machen bedient, man sich des Verfahrens nach BETHE und APÁTHY.

Das Nervenzellenpigment gelangt am klarsten mit der WEIGERT-schen Mitosentinktion und fast noch schärfer mit Hilfe des Eisenalaunhämatoxylinverfahrens nach HEIDENHAIN zur Darstellung. Zur Vorbehandlung wählt man Alkohol oder Sublimat; weniger zweckmässig ist Formol. Um das Pigment möglichst deutlich zu erhalten, muss man bei jedem Präparate mehrere Versuche machen. Jedenfalls ist bei beiden Verfahren eine möglichst lange Vorbehandlung in dem Eisensalz und Hämatoxylin und eine weitgehende Differenzirung erforderlich.

Ueber die Nervenzellenkerne wurde das Wichtigste schon gesagt.

Glia.

Für das Studium der Zellkörper der Glia hat sich bis jetzt das Alkohol-Seifenmethylenblauverfahren als die vortheilhafteste Methode erwiesen. Je elektiver die eine Substanzgruppe der Nervenzellen tingirt ist, um so leichter werden die nur mit einem Hauche von Farbe gefärbten Zellkörper der Gliazellen sichtbar. Andeutungen der Zellkörper der Gliazellen erkennt man bei den verschiedensten Verfahren; kein Präparat aber zeigt die Zellkörper aller Gliazellen so klar wie ein gutes Nervenzellen-Uebersichtspräparat, dessen färbbare Theile jedoch möglichst stark gefärbt sein sollen. Das Pigment der Gliazellen wird mit denselben Methoden färberisch sichtbar gemacht, wie das Pigment der Nervenzellen. Die Gliakerne sind mit allen möglichen Färbe- und Vorbehandlungsverfahren darstellbar. Will man die Gliazellkerne in einem anderen Farbton färben als die Kerne der Nervenzellen, so wendet man bei Alkohol- (aber auch bei Formol, Sublimat- und Salpetersäure-) Material Doppelfärbungen z. B. mit Methylenblau und basischem Fuchsin an, welche nach dem von REHM angegebenen Verfahren ausgeführt werden. Die Resultate solcher Färbungen sind aber wenig befriedigend. Die Gliafasern werden am besten mit der WEIGERT'schen Methode dargestellt. Das MALLORY'sche Verfahren giebt nur da gute Gliafaserbilder, wo auch die WEIGERT'sche Methode zum Ziele führt. Zur Zeit giebt es noch kein Verfahren, welches die Gliafasern gesunder Thiere sichtbar macht. In vollständig unberechenbarer Weise bringt zuweilen das Eisenalaunhämatoxylinverfahren HEIDENHAIN's Gliafasern der Thiere zur theilweisen Darstellung, und zwar gleichzeitig mit dem Protoplasmaleibe der Gliazellen und ihren protoplasmatischen Ausläufern. Die Wahl des Fixirmittels scheint dabei keine wesentliche Rolle zu spielen.

Gliazellkörper mit protoplasmatischen Ausläufern und Gliafasern zusammen werden noch immer recht gut in dem mit Kaliumbichromatlösungen langsam erhärteten Gewebe dargestellt. Auch die schnelle Erhärtung des nervösen Gewebes mit oder ohne Unterstützung von Formol führt zum Ziele. Man kann mit Ammoniakkarmin und einem Kernfärbungsmittel oder nach dem VAN GIESON'schen oder irgend einem anderen Verfahren tingiren. In derartigen Präparaten sind aber die protoplasmatischen Ausläufer der Gliazellen und die Gliafasern nicht von einander zu unterscheiden. Uebrigens erhält man ganz ähnliche Bilder bei Vorbehandlung des nervösen Gewebes mit Chromsäure und chromsäurehaltigen Vorbehandlungsmedien und Anwendung verschiedener Färbeverfahren.

Blut- und Lymphgefässe.

Zum Studium der Blut- und Lymphgefässe des Centralnervensystems werden keine besonderen Methoden in Anwendung gezogen. Eine relativ gute Uebersicht über die Vertheilung der feineren Blutgefässe gewährt ein nach der WEIGERT'schen Methode der Färbung elastischer Fasern tingirter Schnitt, da auch die feinsten Kapillaren noch eine Andeutung einer elastischen Haut (Membrana elastica interna) zeigen. Im übrigen empfiehlt es sich, von Gefässen Isolirpräparate zu machen, die man nach bekannten Methoden mit Argentum nitricum, nach der WEIGERT'schen Methode der elastischen Faserfärbung etc. färbt. Zweckmässig ist es auch, die Gefässe mit der Pincette aus dem Centralorgan herauszuziehen und nun für sich technisch zu behandeln. Wo die Pia centrales Gewebe bedeckt, z. B. in der Hirnrinde, bleiben bei einem geschickten Abziehen der Pia die feinsten Gefässe an der letzteren hängen; nun kann man die Pia mit den aus dem Gewebe gerissenen Gefässen fixiren und sodann zu einem Knäuel umformen, in Celloidin oder Paraffin einbetten und denselben in verschiedener Weise fixiren und färben. Auf diese Weise erhält man von den Kapillaren, Arterien und Venen Schnittbilder in allen nur denkbaren Ebenen.

Nervenzellen (pathologisch). So lange die histologische Forschung dem pathologischen Anatomen nicht die für die Untersuchung der krankhaften Veränderungen der Nervenzellen nothwendigen Daten über deren Bauverhältnisse im gesunden Zustande zu liefern vermag, bleibt demselben nichts anderes übrig, als an die Stelle der Bauverhältnisse der Nervenzellen im gesunden Zustand äquivalente Formen derselben zu setzen und letztere zur Grundlage der Untersuchungen krankhaft veränderter Nervenzellen zu machen. Erhält man durch ein bestimmtes technisches Verfahren von den Nervenzellen eines soeben in bestimmter Weise getödteten Thieres so regelmässig ein wohlanalysirbares mikroskopisches Strukturbild, dass man dessen strukturelle Eigenschaften mit der denkbar grössten Sicherheit vorauszusagen vermag, gleichviel ob ein gesundes Thier in bestimmter Weise getödtet oder derart experimentell vorbehandelt worden war, dass man an einer bestimmten Stelle einen Nerven durchschnitten, oder die Bauchaorta unterbunden, oder bestimmte Gifte in bestimmter Dosirungsart verabreicht hatte u. s. w., so liegt auf der Hand, dass dieses Strukturbild in einer bestimmten Beziehung zu dem Verhalten der im Gewebe vorhandenen Norvenzellen des in bestimmter Weise getödteten Thieres steht.

Wir wissen allerdings nicht, ob und inwieweit ein derartiges Strukturbild den Bauverhältnissen entspricht, welche die Nervenzellen des getödteten Thieres thatsächlich darbieten; aber wir sind zu der Behauptung berechtigt, dass es gewissermassen als ein Massstab, als ein Index der wirklich vorhandenen Zellstrukturen zu betrachten ist; d. h. derartige Strukturbilder sind nicht identisch mit den Strukturbildern, welche die Nervenzellen des getödteten Thieres zeigen würden, wenn wir deren wirkliche Bauverhältnisse sichtbar machen könnten, aber sie sind diesen Strukturbildern gleichwerthig, äquivalent. Unter Nervenzellenäquivalent verstehen wir demnach das mikroskopische Strukturbild der im Gewebe vorhandenen Nervenzellen des in einer bestimmten Weise getödteten Thieres, das bei einer bestimmten mikroskopisch-technischen Behandlung des Nervengewebes unter bestimmten Voraussetzungen erfahrungsgemäss mit einer gesetzmässigen Gleichheit zur Darstellung gebracht werden kann.

Bei der Untersuchung der krankhaft veränderten Nervenzellen kümmern wir uns daher nicht weiter um deren Bauverhältnisse im gesunden Zustande, sondern rechnen gewissermassen mit einer konstanten Grösse, dem Nervenzellenäquivalent. Der Begriff des Kunstproduktes hat daher eine ganz andere Bedeutung wie gewöhnlich. Sobald es feststeht, dass alle Bedingungen vorhanden sind, unter welchen die Nervenzellen eines soeben in bestimmter Weise getödteten Thieres in ihre Aequivalentform übergeführt werden, so kennzeichnet jede Abweichung von dem Nervenzellenäquivalentbild gesunder Thiere irgend eine Veränderung der Nervenzellensubstanzen des soeben getödteten Thieres, deren Ursache nicht in irgend welchen äusseren Umständen, z. B. in der Wirkung der chemischen Reagentien u. s. w., sondern in dem thatsächlich vorhandenen Zustand der Nervenzellen des soeben getödteten Thieres liegt.

Wenn auch der Begriff des Nervenzellenäquivalentes Veränderungen ausschliesst, welche nicht im wirklich bestehenden Zustande der Nervenzellen des soeben getödteten Thieres begründet, sondern auf unberechenbare Reagenzwirkungen oder auf andere unerwartete Einflüsse zurückzuführen sind, so müssen wir uns doch auch beim Nervenzellenäquivalent mit der Thatsache abfinden, dass derartige unberechenbare Reagenzwirkungen und Einflüsse bei keinem mikroskopischen Darstellungsverfahren gänzlich auszuschliessen sind. Soll daher der als Aequivalentpräparat bezeichnete Schnitt seinen Charakter nicht verlieren, so müssen die nicht völlig zu vermeidenden, unerwarteten und unberechenbaren Einflüsse nicht nur auf ein mindestes Mass beschränkt, sondern auch bis auf die kleinsten Einzelheiten so genau bekannt sein, dass sie unter allen Umständen bei der Vorhersage des zu erwartenden Bildes »als möglicherweise auftretende künstliche Abweichungen vom Aequivalentbild« berücksichtigt werden können. Daher sind in einem richtigen Aequivalentpräparate die nicht im Zustand der Nervenzellen selbst begründeten, sondern durch uns unbekannte Einflüsse bedingten künstlichen Abweichungen vom Aequivalentbild nicht qualitativ, sondern nur quantitativ unberechenbar. Mit diesen künstlichen Abweichungen vom Aequivalentbild haben die Kunstprodukte gar nichts zu thun. Denn diese sind die Folgen von Kunstfehlern, die bei der Darstellung des Aequivalentbildes gemacht werden. Die Frage, inwieweit das Nervenzellenäquivalentpräparat den natürlichen Bauverhältnissen des Nervengewebes entspricht, ist gewiss von grosser Wichtigkeit. Allein ihre Beantwortung ist Sache der histologischen Forschung; für die Verwerthung des Nervenzellenäquivalentes bei der Ermittelung der krankhaften Veränderungen des Nervensystems ist es vollkommen gleichgiltig, wie diese Antwort auch lauten mag.

Da die Herstellung der Aequivalentpräparate vollkommen gleiche Verhältnisse, z. B. gleiches Alter der Thiere, gleiche Art ihrer Tödtung, Einhaltung der gleichen Zeitintervalle von der Tödtung bis zur Sektion, bei der Herausnahme der Centralorgane und bei der Vorbehandlung der Präparate zur Voraussetzung hat, so giebt es nur Aequivalentpräparate thierischer Nervenzellen. Kommen auch bei völlig gesunden Menschen Unglücksfälle vor, bei denen der Tod plötzlich eintritt, so sind die betreffenden Centralorgane doch nicht innerhalb eines gleichen Zeitraumes zu erhalten, ganz abgesehen davon, dass wirklich brauchbare Präparate ausserordentlich selten und schwer zu erhalten sind. Indess giebt es auch keine Aequivalentpräparate der menschlichen Nervenzellen, so kann man trotzdem von Aequivalentbildern derselben sprechen. Da die Methode zur Darstellung der Aequivalentpräparate der thierischen Nervenzellen auch beim Menschen anwendbar ist, so vermag man durch eingehende vergleichende Studien der thierischen Aequivalentpräparate mit Präparaten des mensch-

lichen Nervensystems, die mit Hilfe der gleichen Methode gewonnen wurden, diejenigen mikroskopischen Bilder von menschlichen Nervenzellen abzuleiten, die den Nervenzellenäquivalenten des thierischen Nervensystems entsprechen. Es liegt auf der Hand, dass bei der Ermittelung des Nervenzellenäquivalentbildes des Menschen die Präparate völlig gesunder Menschen, welche infolge eines schweren Unglücksfalles plötzlich zugrunde gegangen sind, z. B. durch Eindrücken des Brustkorbes zwischen den Puffern zweier Eisenbahnwagen, besonders förderlich sind. Bei der Feststellung der Nervenzellenäquivalentbilder aus dem menschlichen Cortex dürfen Selbstmörder und Hingerichtete auch dann nicht als völlig gesunde Menschen bezeichnet werden, wenn die Sektion sie als solche erscheinen lässt.

Der Unterschied zwischen dem Nervenzellenäquivalentbild eines Thieres und dem des Menschen besteht darin, dass ersteres sich direkt im Mikroskope als Aequivalentbild präsentirt, während letzteres erschlossen werden muss.

Wie wir bereits aus dem histologischen Theil wissen, erfüllen zur Zeit nur die Präparate der Alkohol-Seifenmethylenblaumethode die Voraussetzungen eines Nervenzellenäquivalentpräparates; allerdings haben wir eine grosse Reihe unberechenbarer Reagenzwirkungen festgestellt; aber es darf nicht übersehen werden, dass wir diese Reagenzwirkungen kennen. In dieser Frage haben nur jene Forscher ein Urtheil, die sich Jahre lang mit dieser Materie beschäftigt und stets die Gesammtheit aller centralen Nervenzellen berücksichtigt haben. Man vermag auf die denkbar einfachste Art mit Alkohol vorbehandelte Gewebe nach dem Principe der Ueberfärbung mit wässerigen Farbbasenlösungen u. s. w. färben und erhält wochenlang lauter befriedigende Präparate, bis eines Tages die Färbungsergebnisse nicht nur ungleich ausfallen, sondern auch unter Umständen vollkommen unklare und bis dahin unbekannte mikroskopische Bilder liefern. In noch viel höherem Grade gilt das für Formolpräparate, bei denen das Phänomen der künstlichen Schrumpfung und Zellformen, von denen man nicht weiss, sind sie künstlich geschrumpft oder nur künstlich geschrumpften Zellen ähnlich, im hohen Grade verwirrt. Bei den Sublimatpräparaten ist die Sachlage noch etwas schwieriger, weil die kleinzelligen und mittelstarken Zellarten ausserordentlich schwer auseinander zu halten sind.

Was das Gewebsmaterial betrifft, das Aequivalentpräparate liefern soll, so darf man vor allem nicht die Thiere vergiften. Man guillotinirt dieselben oder tödtet sie durch einen Stich ins Halsmark. Grösseren Thieren stösst man zweckmässig eine Hohlnadel in den Ventrikel und bläst mit einem Ballon Luft ein; Kaninchen werden erhängt. Mit der Herausnahme der Centralorgane braucht man sich nicht zu beeilen, wenn man nur dieselben stets mit Körperflüssigkeit feucht hält. Wenn die Organe $1^1/_2$ Stunden nach dem Tode eingelegt sind, so hat man nichts zu befürchten. Mit Wasser darf das Gewebe nicht bespült werden. Letzteres gilt insbesonders für die Herausnahme der menschlichen Centralorgane.

Ueber die Grösse der Fixirblöcke haben wir das Nothwendige bereits gesagt. Wo immer die Pia ohne Schaden abgezogen werden kann, soll man das nie unterlassen.

Man übersehe nicht, dass beim Abziehen der Pia stets eine Menge kleinster Gefässe aus dem Gewebe herausgerissen werden.

Beim Ausschneiden jeglicher Fixirblöcke benützt man am zweckmässigsten nicht ein Messer, sondern eine scharfe und sehr spitze Scheere. Der ausgeschnittene Fixirblock gelangt direkt aus dem Centralorgan in ein Gefäss mit reichlichem 96%igen Alkohol (etwa das 50—60fache seines Volumens). Niemals darf der Fixirblock direkt auf dem Boden des

Glases liegen; letzterer wird mit einer mehrfachen Lage von Filtrirpapier oder Glaswolle bedeckt. Werden mehrere Fixirblöcke gleichzeitig in einem Glase behandelt, so muss für die entsprechend grössere Menge von 96%igem Alkohol und dafür Sorge getragen werden, dass sämmtliche Oberflächen der einzelnen Fixirblöcke vom Alkohol direkt bespült werden. Nach 24 Stunden wird der 96%ige Alkohol durch eine ebenso reichliche Menge frischen 96%igen Alkohols ersetzt.

War aber der Alkohol infolge des Einlegens der Fixirblöcke trübe geworden, so erneuert man den trüben Alkohol schon nach wenigen Stunden.

Hat der Fixirblock sein Konsistenzmaximum erreicht, das man an der völlig homogenen Konsistenz desselben leicht erkennen kann, so ist derselbe schnittfähig. Als die zweckmässigste Zeit für das Schneiden haben wir den 5. Tag nach dem Einlegen bezeichnet. Die Nothwendigkeit des öfteren Wechselns des Alkohols ergiebt sich bereits aus den Erörterungen über die Zerfallsprodukte der Markscheiden. Dieselben schliessen auch die Vorschriften in sich, die beachtet werden müssen, wenn wir einen Fixirblock nicht sogleich, sondern erst später schneiden oder denselben jahrelang aufbewahren wollen. Da die Fixirblöcke zum Schneiden auf einen Kork oder auf Holz aufgeklebt werden, so ist speciell daran zu erinnern, dass dieselben niemals in diesem aufgeklebten Zustande in Alkohol aufbewahrt werden dürfen, wenn man sie später noch benützen will und wenn ihre Güte keine Einbusse erleiden soll. Die Farbstoffe des Korkes und des Holzes und andere daselbst enthaltene Substanzen treten nämlich in den Alkohol über und beeinflussen in schädlicher Weise das Gewebe, dessen Oberfläche auch eine schmutziggraue oder graubraune Farbe erhält. Die grösste Schädlichkeit, die einen Fixirblock trifft, ist das partielle Eintrocknen desselben.

Der wichtigste Satz für die Herstellung von Schnitten, welche Aequivalentpräparate werden sollen, lautet: Das in 96%igem Alkohol fixirte und gehärtete Gewebe darf unter keinen Umständen eingebettet werden, sondern ist uneingebettet zu schneiden. Das Gewebe darf also vor seiner Färbung mit keinem andern Stoff in Berührung gebracht werden, ausser mit 96%igem Alkohol. Die Aufklebefläche des zu schneidenden Stückes wird mit einem scharfen Rasirmesser zu einer völlig ebenen Fläche umgewandelt. Dieses Stück soll nicht höher als 6—8 Mm. sein. Die Schnittfläche dagegen kann beliebig gross sein; im allgemeinen sind bei grossen Schnittflächen die Schnitte schwerer herzustellen und werden auch nicht so fein als bei kleinen Schnittflächen. Enthält das Präparat viel graue Substanz und wenig Mark, so überschreitet eine Schnittfläche von 10×10 Mm. oder von 8×12 Mm. keineswegs normale Verhältnisse; sie kann im Gegentheil noch erheblich grösser sein. Die Aufklebefläche des Korkes oder Holzstückes ist ebenfalls völlig eben. Nun trägt man eine Gummiarabicumlösung in dünner Schicht auf die Aufklebefläche des Korkes auf, trocknet rasch die Aufklebefläche des Gewebsblockes mit Filtrirpapier ab und presst den Gewebsblock mit einem leichten Druck zwischen Daumen und Mittelfinger auf die Gummilösung auf, wobei man Sorge trägt, dass die Peripherie der Aufklebefläche allenthalben der Aufklebefläche des Korkes oder des Holzes sich innig anschmiegt, und bringt den Kork mit dem Gewebsblock in eine Schale 96%igen Alkohols. Nach wenigen Minuten ist der Gummi hart geworden, was man an seiner schneeweissen Farbe erkennt. Sodann wird der Kork in die Mikrotomklammer eingespannt und das Gewebe mit einem mit Alkohol (96%) befeuchteten schräg stehenden Messer in Scheiben zerlegt, deren Normaldicke 10—12 μ beträgt; die Scheiben werden in einer Schale mit 96%igem Alkohol aufgefangen und nachdem sie völlig glatt

ausgebreitet liegen, gesammelt. Von dieser Schale gelangen sie direkt in die Färbungsflüssigkeit.

Es ist ein Irrthum, zu glauben, dass die Herstellung von Schnitten aus uneingebettetem Gewebe besondere Schwierigkeiten bereite. Beim Nervensystem ist das Schneiden von celloidinirtem Materiale durchaus nicht leichter. Allerdings ist eine Bedingung unabweisbar: die Messerschneide muss tadellos scharf sein. Das Messer darf unter keinen Umständen parallele Riefen auf der Schnittfläche hervorrufen. Misslingen Schnitte von Gewebsblöcken, die nicht zum grössten Theil aus Mark bestehen, und ist das Gewebe nicht pathologisch verändert, dann ist unter allen Umständen die Ursache im Messer oder im schlechten Aufkleben zu suchen.

Zum Aufkleben wird gewöhnlicher Gummi arabicum in wässeriger Lösung verwendet. Am besten stellt man denselben dickflüssig, in Honigdicke, her. Für die zweckmässigste Messer- und Präparatenstellung beim Schneiden giebt es keine speciellen Regeln. Hier tritt die Erfahrung in ihr Recht. Im allgemeinen ist zu empfehlen, das Messer möglichst schräge zu stellen und die ganze Schneide auszunützen, während der Gewebsblock so eingeklemmt wird, dass die Messerschneide parallel mit den Hauptfaserzügen im Gewebe verläuft. Der Rand des Gewebsblockes, an dem das Messer angreift, wird im Gegensatz zu dem gegenüberliegenden Rande stets etwas fransig. Ist es unterlassen worden, die Pia schon vorher abzuziehen, so holt man diese Manipulation wo möglich noch vor dem Schneiden nach. Ganz besonders gilt das für das Rückenmark; jedenfalls wird dadurch die weitere Behandlung der Schnitte sehr erleichtert.

Hat man sehr kleine Objekte zu schneiden, wie z. B. Spinalganglien, das Ggl. ciliare, die sympathischen Ganglien von Kaninchen, so muss man natürlich dafür Sorge tragen, dass der steinharte Gummi die Mikrotommesserschneide nicht beschädigt. Ferner darf man nicht die natürliche Oberfläche der Ganglien als Aufklebefläche benützen, da die die Ganglien einhüllende Bindegewebslage nicht genügenden Halt giebt. In solchen Fällen spitze man den Kork zu und schaffe eine ganz kleine, dem Objekte entsprechende Aufklebefläche, welche spiegelglatt ist. Hierauf schneidet man mit einem Rasirmesser nur so viel von der Oberfläche des Objektes hinweg, dass man das nervöse Gewebe des Ganglion selbst zur Aufklebefläche erhält. Nunmehr tauche man nur die Spitze der Präparirnadel in die Gummilösung. So erhält man nur den Theil eines Tropfens. Letzterer wird mit dem Ballen des Daumens verrieben, so dass die Aufklebefläche gleichmässig mit einer minimen Schicht Gummi bedeckt ist. Jetzt drückt man das Objekt, dessen Aufklebefläche rasch mit Fliesspapier abgetrocknet wird, auf die Gummischicht des Korkes auf. Bei einiger Uebung und Geschicklichkeit macht das Schneiden solcher winziger uneingebetteter Präparate nicht die geringsten Schwierigkeiten. Schneidet man in der Richtung des ein- und austretenden Nerven, so erhält man z. B. von dem oberen sympathischen Halsganglion des Kaninchens leicht Schnitte von 4 μ.

Eine der allerwichtigsten Regeln bei der Behandlung uneingebetteter Gewebsblöcke betrifft die völlige Ausbreitung der Schnitte in der Schale, in der dieselben gesammelt werden. Man mache es sich zur Regel, nur vollständig ausgebreitete Schnitte in der Schale mit Alkohol zu sammeln. Wird das Messer mit grossen Mengen von Alkohol beschickt, so ist es die Regel, dass die Schnitte sich falten. Sobald man daher bemerkt, dass der Rand des Schnittes sich umlegt, unterbricht man die Bewegung des Messerschlittens und glättet die Randfalte mit einem mit Alkohol befeuchteten weichen Pinsel aus, d. h. man legt einfach den umgeschlagenen Theil des Schnittes um; hierauf setzt man den Messerschlitten wieder in Bewegung und vollendet den Schnitt. In den meisten Fällen liegt nun der Schnitt vollkommen ausgebreitet auf dem Messer. Beschickt man das Messer nur mit sehr wenig Alkohol, so schlägt sich der Rand des Schnittes nicht um. Man verbringt nun den Schnitt in eine Schale, gefüllt mit 96%igem Alkohol, in der man mit der weichen Pinselspitze nochmals den Schnitt vollständig auf dem Boden ausbreitet, was ohne jede Schwierigkeit auszuführen ist, vorausgesetzt, dass der Schnitt eben auf der Messerklinge vollständig ausgebreitet war. Man kann die Bewegung des Messerschlittens nur dann ohne Schaden unterbrechen, wenn man gar keinen Druck auf denselben ausübt, sondern ihn in gleichmässig langsamem Tempo durch seine Bahn zieht.

Während die Gewebsblöcke bei richtiger Behandlung unbegrenzt lange aufbewahrt werden können, ohne dass die mikroskopischen Bilder der aus ihnen gewonnenen Schnitte Abweichungen vom Aequivalentbild darbieten, sind die einmal fertiggestellten Schnitte auffallend empfindlich. Es ist daher fehlerhaft, die einmal hergestellten Schnitte nicht sofort zu färben und sie Tage und Wochen lang im Alkohol aufzubewahren. Man mache daher immer nur soviel Schnitte als man braucht, und benöthigt man später noch weitere Schnitte, so liefert dieselben ein richtig konservirter Gewebsblock zu jeder Zeit. Der Grund, warum die Schnitte eines Gewebsblockes sich anders verhalten wie dieser, ist noch nicht bekannt. Da Schnitte, welche viele kugelige Gebilde der neuen N- und P-haltigen Myelinsubstanz enthalten, bei längerem Aufenthalt in Alkohol erfahrungsgemäss jene

Gebilde völlig oder zu einem grossen Theil verlieren, so erscheint es nicht unwahrscheinlich, dass die Zersetzungsprodukte dieser Myelinsubstanzen das Gewebe in schädlicher Weise beeinflussen. Thatsächlich verhalten sich auch keineswegs alle Schnitte gleich.

Man verbringt den auf dem Spatel vollständig ausgebreiteten faltenlosen Schnitt aus dem Alkohol in ein Uhrschälchen, welches mit einer älteren, filtrirten und kalten Lösung von Seifenmethylenblau gefüllt ist und sorgt dafür, dass er vollkommen ausgebreitet auf der Oberfläche der Farblösung schwimmt. Sodann wird letztere durch eine Spiritusflamme so lange erwärmt, bis die ersten Luftbläschen an der Oberfläche der Farblösung zutage treten. Hierauf wird die Flamme sofort entfernt und der noch immer auf der Oberfläche schwimmende Schnitt rasch von der Farbe in eine mit Differenzirungslösung gefüllte Schale verbracht.

Was die Farblösung anlangt, so wird dieselbe aus Methylenblau B Patent gewonnen. Es haben sich verschiedene unter Methylenblau B-Patent bezeichnete Farbstoffe als unbrauchbar erwiesen. Am besten bewährt hat sich das Methylenblau B-Patent, das von Carl Buchner & Sohn, Fabrik pharmaceutisch-chemischer Produkte, München, bezogen wurde. Die venetianische Seife, die ebenfalls zur Herstellung der Farblösung benützt wird, ist fest und in Apotheken zu erhalten. Statt Brunnenwasser benütze man Aqua destillata. Erfahrungsgemäss sind alte Lösungen der frisch bereiteten Farblösung vorzuziehen. Man soll es sich zur Regel machen, nur mit im Minimum $^1/_4$ Jahr alten Lösungen zu arbeiten. Man wiegt ab 3,75 Grm. Methylenblau B-Patent und schabt sodann mit einem Messer 1,75 Grm. venetianische Seife ab; hierauf fügt man diesem Gemenge 1 Liter destillirten Wassers bei, schüttelt tüchtig und lässt die Farbe mindestens ein Vierteljahr stehen. So oft man Farblösung braucht, soll dieselbe vorerst gut geschüttelt werden. Sodann wird die Lösung in das Uhrschälchen filtrirt. Mit einem solchen Filtrate können sehr viele Schnitte hintereinander behandelt werden. Bezüglich der Frage, wie lange die filtrirte Lösung brauchbar ist und ob sie wieder in das Standgefäss zurückgegossen werden darf, kommt alles darauf an, ob dieselbe viel oder nur Spuren von Alkohol aufgenommen und inwieweit sie beim Erwärmen Wasser verloren hat. Ersteren Umstand erkennt man aus der Abnahme der Diffusionsvorgänge; der Schnitt sinkt leicht unter. Die Eintrocknung zeigt sich ohne weiters an den Rändern der Uhrschale. Will man ganz sicher gehen, so giesse man die Farblösung nach dem Gebrauche aus oder färbe höchstens 30 Schnitte mit der gleichen Lösung und lasse sie niemals über Nacht in der Uhrschale stehen.

Für die Tinktion ist massgebend der Gesichtspunkt einer möglichst gleichmässigen Behandlung der Schnitte. Man macht es sich daher zur Regel, stets mit denselben Apparaten, mit gleich grossen Gefässen, mit einem gleichen Quantum Flüssigkeit zu arbeiten. Zweckmässig ist der Gebrauch eines kleinen Stativs, mit einem Ringe für das auf einem Drahtnetz liegende Uhrschälchen. Die Spiritusflamme ist etwa 3 Cm. lang und berührt mit ihrer Spitze das Drahtnetz. Man vermeide, die Schnitte in die noch heisse Lösung zu bringen; die Farblösung soll rasch erwärmt und soweit erhitzt werden, bis das erste Luftbläschen an der Oberfläche der Farblösung zerplatzt. Bei einiger Uebung gelingt es leicht, die Schnitte möglichst gleich zu färben. Die ersten Luftbläschen sind sehr klein und werden daher leicht übersehen. Erhitzt man stärker, so sinken die Schnitte gerne unter und falten sich.

In diesem Falle kann man oft lange mit der Präparirnadelspitze den Schnitt suchen. Hierbei kann von einer möglichst gleichmässigen Färbung der einzelnen Schnitte keine Rede sein. Es ist daher nicht gleichgiltig, ob man den Schnitt während der Färbung im Auge hat, oder ob derselbe auf dem Boden des Uhrschälchens liegt.

An sich könnte man ohne Schwierigkeit mehrere Schnitte in der gleichen Schale färben; bei der Darstellung des Aequivalentpräparates aber ist ein derartiges Verfahren inkorrekt.

Sind sehr kleine Schnitte zu färben, wie z. B. Schnitte durch die Spinalganglien oder durch das Ganglion ciliare, so ist die Färbung in der Uhrschale unzweckmässig. In diesem Falle sucht man mehrere solcher Schnitte auf dem Spatel festzuhalten, was bei einiger Uebung und Geschicklichkeit leicht gelingt. Nur muss man sich vor dem Eintrocknen der Schnitte hüten, denn dieselben liegen nur in einer sehr dünnen Schicht Alkohol. Sodann beschickt man die Klinge des Spatels mit ein paar Tropfen der Farblösung und erwärmt äusserst vorsichtig den Spatel. Das ist die schwierigste Operation. Denn der metallene Spatel wird sehr leicht zu heiss und dann schnurren die Schnitte einfach zusammen.

Was die Bedeutung der venetianischen Seife für den Färbeprocess betrifft, so ist dieselbe nach neueren Untersuchungen zu den kolloidbildenden Substanzen zu rechnen (Gerhard Preuner, Ueber die Bedeutung kolloidaler Salze für den Färbeprocess. Inaug.-Dissert. Heidelberg 1898).

Nunmehr erfolgt die Differenzirung des überfärbten Schnittes. In der Schale, welche mit Anilinölalkohol gefüllt ist, verbleibt der Schnitt

nur so lange, bis man ihn vollständig ausgebreitet auf dem Spatel verbracht hat; auf letzterem wird er sofort auf einen Objektträger übertragen, worauf die überflüssige Differenzirungsflüssigkeit durch Neigen des Objektträgers entfernt wird. Der Schnitt wird nunmehr mit Filtrirpapier abgetrocknet und hierauf mit Cajeputöl beschickt. Damit ist die Färbung beendet.

Die Differenzirungsflüssigkeit wird dadurch hergestellt, dass man 10 Theile fast wasserhelles Anilinöl mit 90 Theilen von 96%igem Alkohol mengt. Aequivalentpräparate sind mit voraussagbarer Sicherheit nur dann zu erzielen, wenn das Anilinöl fast wasserhell ist. Absolut wasserhelles Anilinöl scheint es nicht zu geben. Es soll nicht behauptet werden, dass gefärbtes Anilinöl in jedem Falle unbrauchbar ist, sondern es giebt in der That deutlich gelbe und sogar gelbbräunliche Anilinöle, welche ebenso zuverlässig differenziren wie das fast wasserhelle. Allein die gefärbten Anilinöle sind nicht gleich und darum unberechenbar. Man beziehe daher aus den Höchster Farbwerken wasserhelles Anilinöl; leider wird dasselbe nur in Literflaschen abgegeben. Schützt man aber dasselbe sorgfältig vor Licht, so kann man es noch verwenden, wenn es die Farbe von tiefgelbem Rheinwein zeigt. Jedenfalls aber mache man es sich zur Regel, die fertige Differenzirungslösung stets nur in kleinen Mengen (etwa 100—300 Grm.) und in einem für Licht undurchlässigen Glase mit eingeschliffenem Glasstopfen vorräthig zu halten.

Ein specielles Auswaschen des Schnittes in der Differenzirungslösung, bis keine Farbwolken mehr abgehen, ist überflüssig. Hält man sich genau an die Regel, alle Manipulationen möglichst rasch vorzunehmen, so ist bei einiger Uebung genügende Garantie dafür gegeben, dass die einzelnen Schnitte in gleicher Weise hergestellt werden.

Die Differenzirungslösung kann man zur Färbung mehrerer Schnitte verwenden. Erst wenn sie stark grünblau tingirt ist, ersetze man sie durch neuen Anilinalkohol. Färbt man nicht unmittelbar hintereinander, sondern erst wieder nach einer längeren oder kürzeren Pause, so ist die Differenzirungslösung unter allen Umständen wegzugiessen, und zwar auch dann, wenn nur ein einziger Schnitt differenzirt worden war.

Färbt man auf dem Spatel, so kann die Lösung nur einmal benutzt werden. Da man mehrere Schnittchen auf den Spaten zu verbringen pflegt, so ist genügende Sicherheit vorhanden, wenigstens einen derselben unverzüglich rasch auf den Objektträger zu legen. Im übrigen werden die kleinen Schnitte genau ebenso wie die grösseren behandelt.

Die von Weigert für die Neuroglia, resp. für die Fibrinfärbung empfohlene Filtrirpapiersorte ist auch hier zu verwenden.

Von dem Momente, von dem an der Schnitt in die Farblösung kommt, bis zu dem Momente, wo er auf dem Objektträger mit Cajeputöl beschickt wird, sind die Vorgänge im einzelnen aufmerksamst zu verfolgen und die nothwendigen Manipulationen möglichst fix zu verrichten; sobald der Schnitt mit Cajeputöl bedeckt ist, verändert sich in der Regel nichts mehr. Bei richtiger Behandlung differirt die inzwischen verstrichene Zeit zwischen 5 und 20 Sekunden.

Zur Montirung des Schnittes genügt es, den Schnitt mit Cajeputöl zu durchtränken; man kann aber auch das Oel beliebig lange auf dem Schnitt stehen lassen. Das überschüssige Oel entfernt man durch Neigen des Objektträgers. Der Schnitt wird nun noch einmal mit Filtrirpapier abgetrocknet, sodann alles Oel mittels Benzin sorgfältig entfernt, worauf der Schnitt in Xylolkolophonium eingeschlossen und mit einem Deckglas bedeckt wird.

Cajeputöl und Benzin werden zweckmässig in Gläschen mit eingeschliffener Pipette aufbewahrt. Man kann helles und grünlich gefärbtes Cajeputöl verwenden; auf keinen Fall jedoch darf es dem Schnitte Farbe entziehen.

Sobald der noch mit Anilinöl durchtränkte abgetrocknete Schnitt mit Cajeputöl übergossen ist, kann er sofort weiterbehandelt werden; manchmal jedoch ist es empfehlenswerth, etwas zu warten, um z. B. einen noch mit Pia versehenen Schnitt, dessen pialer Rand sich im Cajeputöl eingerollt hat, wieder auszubreiten. Mit Rücksicht auf die Vorschrift, die Schnitte sorgsam zu glätten und auszubreiten, wäre es eine irrige Meinung, wenn man das vollständige Ausbreiten der Schnitte lediglich als eine ästhetische Frage betrachten würde. Man kann nämlich zeigen, dass der vollständig ausgebreitete und auf der Oberfläche der Farbe schwimmende Schnitt sich gleichmässiger tingirt als ein gefalteter Schnitt, der auch in der Farblösung viel leichter untersinkt. Zweifellos spielen hier physikalische Vorgänge eine Rolle.

Ist das Cajeputöl mit Filtrirpapier abgetrocknet, so ist der Schnitt der grossen Gefahr ausgesetzt, dass einzelne Stellen desselben eintrocknen können. Leidet darunter der

ganze Schnitt oder grössere Theile desselben, so ist eben das Präparat unbrauchbar. Nur der Unerfahrene wird einen solchen Schnitt mit dem Aequivalentpräparat verwechseln. Je kleiner aber die ausgetrocknete Stelle ist und je unvollständiger die Austrocknung erfolgt ist, um so leichter werden oft derartige Stellen mit lokalisirt auftretenden pathologischen Veränderungen verwechselt. Nachdem man daher den Schnitt abgetrocknet hat, spüle man ihn sofort mit reichlichen Mengen von Benzin gründlich ab, sodann neige man den Objektträger etwas, damit das überschüssige Benzin abträufelt, und beschicke den noch mit Benzin nassen Schnitt mit Xylolkolophonium, wobei man aber Sorge trägt, dass letzteres den Schnitt völlig einhüllt. Die Nichtbefolgung dieser Regeln rächt sich in zweifacher Weise. Spült man den Schnitt nicht sehr gründlich aus, so blasst das Präparat leichter ab. Verbringt man das Xylolkolophonium nicht auf den noch vom Benzin nassen Schnitt und sorgt nicht für die völlige Einhüllung des Schnittes mit der Harzlösung, so ist die Gefahr einer stellenweisen Eintrocknung äusserst gross. Ist man weniger geübt, so ist es zweckmässig, etwas dünneres Kolophonium und reichliche Mengen desselben zu nehmen. Speciell beim Kolophonium tritt nicht so selten ein Phänomen auf welches sehr unangenehme Folgen hat. Beschickt man nämlich den Schnitt mit einem Tropfen der Harzlösung, so breitet sich dieselbe in der Regel nicht über den ganzen Schnitt aus, sondern bleibt sehr häufig als Tropfen auf dem Schnitte liegen, so dass alle übrigen Stellen des Schnittes eintrocknen würden, wenn man nicht die Harzlösung mechanisch über den ganzen Schnitt vertheilte. In einem andern Falle breitet man zwar von vornehercin das Kolophonium gleichmässig über den Schnitt aus, das Harz bleibt aber nicht in dieser Vertheilung, sondern zieht sich zusammen, so dass die Ränder des Schnittes von Harz entblösst werden, oder es weicht im Centrum zurück, so dass die Mitte des Schnittes vom Harz nicht bedeckt wird. Kennt man diese Phänomene und weiss, wie gross die Gefahr des partiellen leichten Eintrocknens für den Schnitt ist, so kann man Fehler nach dieser Richtung leicht vermeiden.

Beim Abspülen des Schnittes mit reichlichen Mengen Benzin ist ein starker Druck auf das Gummiköpfchen der Pipette zu vermeiden, da der Schnitt sich leicht von seiner Unterlage ablöst. Andernfalls ist hier und da ein kräftigerer Strahl Benzin sehr am Platze, z. B. wenn das Filtrirpapier stark abfasert oder wenn Staubpartikelchen etc. auf dem Schnitt liegen u. s. w. Solche Verunreinigungen sind auf diese Weise leicht zu beseitigen. Stellt sich nach der Beschickung des noch von Benzin nassen Schnittes mit Xylolkolophonium eine milchige Trübung des letzteren ein, so hat dieselbe keine weitere Bedeutung, da sie beim Erwärmen des Objektträgers rasch verschwindet.

Die Xylolkolophoniumlösung wird aus gewöhnlichem käuflichen Kolophonium bereitet, das man in pulverisirter Form in ein ca. 50 Grm. fassendes Opodeldokglas schüttet, so dass das Glas zur Hälfte damit angefüllt ist. Man giesst nun solange Xylol zu, bis das Glas voll ist. Nun lässt man dasselbe offen unter einer Glasglocke stehen. Sehr bald scheidet sich eine durchsichtige, klare, dünnflüssige, deutlich gelblich-röthlich gefärbte oberflächliche Schicht von dem reichlichen, trüben, schmutzig aussehenden, syrupartigen Bodensatz ab. Nunmehr giesst man die oberflächliche klare Schicht in ein reines Gefäss und hat die Stammlösung für das Xylolkolophonium. Je nachdem man diese dünnflüssige Stammlösung länger oder kürzer offen stehen lässt, erhält man alle Grade der Konsistenz.

Ist der Schnitt allseitig von Kolophonium beschickt, so wird er mit einem Deckgläschen bedeckt. Es wurde oben auf das eigenartige Verhalten des Xylolkolophonium aufmerksam gemacht. Infolgedessen bedarf es einer gewissen manuellen Geschicklichkeit, das Einbettungsmittel gleichmässig über den Schnitt auszubreiten. Der Anfänger thut gut, wenn er eine nicht allzu dicke Lösung nimmt und dieselbe mechanisch mit dem Glasstäbchen überallhin ausstreicht. Besitzt man aber einige Uebung, so wendet man zweckmässiger eine etwas dickere Lösung an, da eine solche gewisse Vorzüge vor einer dünneren besitzt. Man mache sich zur Regel, folgendermassen zu verfahren. Sobald der Schnitt allseitig vom Einschlussmittel bedeckt ist, erwärme man den Objektträger ganz leicht, bis die Kolophoniumlösung maximal dünnflüssig erscheint. (Wendet man von Anfang an eine sehr dünnflüssige Lösung an, so breitet sich dieselbe sofort über den ganzen Objektträger aus.) Sobald das Einschlussmittel das Maximum der Dünnflüssigkeit erreicht hat, neigt man den Objektträger, so dass alles überflüssige Harz abfliesst, und bedeckt sofort den Schnitt mit einem Deckglas. Folgt hier nicht fix Manipulation auf Manipulation, so tritt leicht ein stellenweises Eintrocknen des Schnittes ein: beim Erwärmen zeigen sich nämlich ganz ähnliche Phänomene, wie sie oben geschildert wurden. (So kann es bei ungeschicktem Operiren vorkommen, dass das warmgewordene Harz sich über den ganzen Objektträger ausbreitet, d. h. vom Schnitt zurückweicht, so dass derselbe in toto eintrocknet.) Wer nicht sehr rasch zu arbeiten vermag, giesse das Kolophonium lieber nicht ab und versuche dadurch, dass er den Objektträger zwischen Daumen und Zeigefinger der beiden Hände fasst und nach allen Ebenen bewegt, das Kolophonium gleichmässig auf den Schnitt zu vertheilen. Sodann wird das Deckglas aufgelegt. Nun wird nochmals vorsichtig erwärmt und ein leichter Druck mit der Nadel

auf das Deckglas ausgeübt. Sammelt sich dabei Harz an den Rändern des Deckglases an, so entfernt man dasselbe mit einem Tuche. Man wiederholt diese vorsichtige Erwärmung so oft, bis sich auf Druck kein Harz mehr ausserhalb des Deckglases ansammelt. Selbstverständlich aber muss das Einschlussmittel das ganze Deckglas ausfüllen. Hat man den Schnitt richtig montirt, so ist nunmehr derselbe in einer vollständig trockenen und steinharten Einschlussmasse eingebettet.

Sehr häufig werden bei dem Einschliessen des Schnittes in Xylolkolophonium grobe Fehler gemacht. Wird so hochgradig erwärmt, dass unter dem Deckglas eine Menge von grossen und kleinen Bläschen auftreten, so kann eine starke Entfärbung des Schnittes, ferner der Einschluss kleinster Luftbläschen in den Glia- und Gefässendothelzellenkernen und noch manch' andere unangenehme Erscheinung die Folge sein. Wer manuell nicht sehr geschickt ist, verzichtet besser auf die Einbettung in ein trockenes, steinhartes Harz und erwärmt nur ganz wenig, um eine möglichst gleichmässige Ausbreitung des Einschlussmittels zu erzielen. Die starke Gelbfärbung sehr dickflüssiger Kolophoniumlösungen bringt auf keinen Fall Nachtheile, sondern eher Vortheile, indem die feinsten Strukturen sogar etwas deutlicher zutage treten. (Diese Erfahrung wird durch die Ergebnisse der Mikrophotographie bestätigt.)

Die Aufbewahrung der Schnitte. Vollständig regelrecht hergestellte Schnitte, die vor der Einwirkung des Sonnenlichtes geschützt werden, sind selbst im ungünstigsten Falle 3—5 Monate brauchbar; die Mehrzahl kann man aber noch nach einem Jahre und länger benützen. Ein Schnitt, der Zeichen der Abblassung darbietet, gilt nicht mehr als Aequivalentpräparat. Löst man das Deckgläschen ab und färbt den Schnitt nochmals, so hat derselbe nicht mehr die Bedeutung eines Aequivalentpräparates. Ebenso dürfen solche Schnitte nicht mehr als Aequivalentpräparate benutzt werden, die zwar an sich nicht abgeblasst sind, allein Luftblasen oder Trübungen, Krystallbildung und Aehnliches zeigen und durch Erhitzen des Einschlussmittels wieder gebrauchsfähig gemacht wurden.

Bei der Aufbewahrung der Präparate können unzählige Veränderungen derselben beobachtet werden. Es ist unmöglich, auf alle Einzelheiten einzugehen, die bis jetzt festgestellt worden sind.

Uebrigens gaben schon abgeblasste Präparate dem Kundigen unter Umständen noch manchen Aufschluss.

Die Ursachen des Phänomens der Abblassung sind noch keineswegs genau bekannt. Der Schutz vor dem Tageslicht ist nur ein Faktor, der in Betracht kommt. Auch wenn man alle Faktoren, die uns heute bekannt sind, ausschaltet, so macht man dennoch die Erfahrung, dass der eine Schnitt sich Jahre und selbst ein Jahrzehnt hindurch tadellos hält, während ein anderer schon nach 3—4 Monaten anfängt, blass zu werden. Noch viel deutlicher tritt diese Erscheinung an den alten Präparaten zutage. Früher wusste man nicht, dass eine flüssige oder halbflüssige Einbettungsmasse eine der wichtigsten Ursachen der Abblassung der Schnitte ist. Obschon aber die alten Präparate in halbflüssigen Balsam eingebettet wurden, haben sich einige Schnitte mehr als ein Jahrzehnt tadellos erhalten, während andere schon nach wenigen Tagen anfingen abzublassen. Das Phänomen der Abblassung selbst bietet eine Reihe von hochinteressanten Einzelheiten, auf welche hier nicht näher eingegangen werden kann. Es soll nur darauf hingewiesen werden, dass häufig nur die sich in der Norm intensiv tingirende Substanz des Nervenzellenleibes leidet, während die mittelstark gefärbten Gebilde nur wenig, die sich in der Norm blass tingirenden Substanzen aber gar nicht verändert werden. Solche Präparate sind natürlich für die Histopathologie gar nicht zu verwerthen, klären aber über manche histologische Details auf. Insbesondere geben solche Präparate manchen werthvollen Anhaltspunkt für die Beurtheilung der Deckkraft intensiver Farben.

Sehr merkwürdig ist das Auftreten von Metachromasien in alten Präparaten, von feinsten Luftbläschen in den Kernen von Endothelien, Gliazellen u. s. w. Auf den Umstand, dass gewisse Nervenzellenstrukturen in alten abgeblassten Präparaten verändert zu sein scheinen, kann hier ebenfalls nicht eingegangen werden.

Die ersten sicheren Kennzeichen der Abblassung bieten die Kernkörperchen grösserer Nervenzellen dar. Treten in denselben die Kernkörperchenvakuolen deutlich zutage, so ist das ein sicheres Zeichen der beginnenden Abblassung. (Selbstverständlich hat dieses Zeichen nur dann diese Bedeutung, wenn das frisch gefärbte Präparat diese Vakuolen nicht zeigte: überhaupt vergesse man nicht, dass in einem Aequivalentpräparat alle Grade der Färbung nur eine relative Werthangabe darstellen. Konstante Färbungsgrössen sind die Kernkörperchen der motorischen Nervenzellenart = intensiv blau; die Kernmembran und basophilen Körner der Gliakerne = mittelstark blau; die Kerne der Gefässendothelien auf Flächenschnitten (nicht

in den Seitenwänden) im ruhenden Zustand = blassblau; der Zellleib fast aller nicht regressiv veränderten Gliazellen = minimal gefärbt, an der Grenze der Sichtbarkeit stehend.)

Die bis jetzt bekannten sicher wirkenden Faktoren der Abblassung der Aequivalentpräparate sind: 1. der Einfluss des Sonnenlichtes, 2. der Einfluss von Spuren von Anilinöl und Cajeputöl, die im Schnitte zurückgeblieben sind, 3. der Einfluss eines weichen, halbflüssigen Einbettungsmediums.

Leider sind wir nicht bei allen pathologischen Gewebsarten in der Lage, sie uneingebettet schneiden zu können. Namentlich gehören hierher Erweichungen, Blutungen, Abscesse, Geschwülste u. dergl. Zu einer principiellen Aenderung der Methodik geben aber diese Schwierigkeiten keinen Anlass. Eine sich über eine Reihe von Jahren erstreckende Erfahrung hat jedoch gelehrt. dass man aus solchen Partien wenigstens theilweise Aequivalentpräparate herzustellen vermag und dass der Nutzen derselben ein so grosser ist, dass die hierbei zu überwindenden Schwierigkeiten kaum in Betracht kommen. Vor allem ist zu betonen, dass vielleicht nirgends die Vorzüge des Aequivalentpräparates so handgreiflich zutage treten wie gerade bei solchen ganz schweren Veränderungen des Centralorganes. Uebrigens lehrt die praktische Erfahrung, dass sich solche Gewebspartien in der Regel besser behandeln lassen, als man nach der Konsistenz solcher Theile anzunehmen geneigt ist.

Die Zahl der Fälle, wo man a priori glaubt, Aequivalentpräparate nicht herstellen zu können, ist eine sehr grosse; denn es gehören hieher nicht nur alle Zertrümmerungen des Gewebes, Blutungen, Erweichungen, Cystenbildung u. s. w., welche wir beim Menschen antreffen, sondern auch die zahllosen Fälle, bei denen wir das Gehirn von Thieren experimentell angreifen. sei es dass man Flüssigkeiten einspritzt, oder dass man Hollundermark oder Wattebäuschchen einführt oder mit glühenden Nadeln das Gewebe zerstört, oder tuberkulöse Gewebswucherungen herbeiführt und so weiter.

Selbstverständlich muss man genau wissen, was man untersuchen will. Handelt es sich nur darum, das zerstörte Gewebe von der gesunden Umgebung möglichst scharf abzugrenzen, oder will man lediglich feststellen, welche Faserbahnen von einem derartig veränderten Areal abhängen u. s. f., so ist die Sachlage ganz anders. In solchen Fällen wird das Gewebe je nach dem Ziel und dem Zwecke der Untersuchung verschieden vorbehandelt.

Handelt es sich aber um die histopathologische Analyse solcher Gewebstheile, so wird man unter allen Umständen die Herstellung von Aequivalentpräparaten anstreben. Fällt das Aequivalentpräparat dermassen aus, dass es gleichzeitig ein vorzügliches Uebersichtsbild der experimentell oder krankhaft veränderten Gewebspartien gewährt, so wird man sich, falls es unmöglich ist, das erkrankte Gewebe noch mit andern Fixirmitteln zu behandeln, mit dem Erreichbaren zufrieden geben müssen. Dieser Fall wird hauptsächlich beim Centralorgan des Menschen eintreten, wenn nur ein einziger und sehr kleiner Herd vorhanden ist. Ist es aber ausgeschlossen, das erkrankte Gewebe uneingebettet zu schneiden, so wird man zwar unter allen Umständen von denjenigen Partien des erkrankten Gewebes Aequivalentpräparate machen, bei denen die Herstellung derselben möglich ist, aber es liegt auf der Hand, dass die z. B. von einem Erweichungsherd gewonnenen Aequivalentpräparate, die vielleicht nur aus den uneingebettet schneidbaren Randpartien des Erweichungsherdes stammen, keinen Einblick in das histopathologische Verhalten des ganzen Herdes ermöglichen. Das Aequivalentpräparat gewährt in diesem Falle nur dann Nutzen, wenn man neben dem Aequivalentpräparate auch vollständige Präparate des ganzen Herdes herzustellen vermag, welche dieselben Bestandtheile wie das Aequi-

valentpräparat sichtbar machen. Uebersichtspräparate, die ganz andere Strukturbestandtheile darstellen, würden selbstverständlich den Nutzen der Aequivalentpräparate illusorisch machen. Es ist daher klar, dass man in allen Fällen, in denen die Konsistenz des Gewebes die Herstellung von Aequivalentpräparaten nur in äusserst beschränktem Masse gestattet, neben solchen Aequivalentpräparaten noch Uebersichtspräparate macht, welche die Aequivalentpräparate möglichst ersetzen. Kann dieses Ziel erreicht werden, so wird sich jedes wirkliche Aequivalentpräparat, und mag es auch noch so klein sein und aus einem noch so peripher gelegenen Areal des Erkrankungsherdes stammen, äusserst nützlich erweisen. Es braucht wohl nicht eigens hervorgehoben zu werden, dass man nur unter dem Zwange der Nothlage mit einem solchen Aequivalentpräparate, resp. mit einem Aequivalentpräparate und einem Ersatzpräparate für das Aequivalentpräparat sich begnügt. Ist der Herd so gross, dass man das erkrankte Gewebe in mehrere Theile zu zerlegen vermag, so ist es wohl selbstverständlich, dass man in einem solchen Falle je nach Bedarf die aus dem erkrankten Gewebe gewonnenen Gewebblöcke mit verschiedenen Fixirmitteln behandelt.

Die technische Ausführung des Untersuchungsplanes macht viel weniger Schwierigkeiten als die Aufstellung des in jedem Falle besten Planes der Untersuchung. Man kann hier keine Regeln geben, denn der bei der Untersuchung einzuschlagende Weg richtet sich völlig nach dem Ziel und dem Zweck der Untersuchung. Daher wird man schon während der Sektion sich den völligen Plan für die Untersuchung zurecht legen; unterlässt man diese Vorsicht, so wird man späterhin jene Methoden, die eine besondere Fixirung benöthigen, überhaupt nicht mehr ausführen können. Bei experimentellen Eingriffen verringern sich die angedeuteten Schwierigkeiten ganz erheblich; der Experimentator hat es in der Hand, schon bei der Ausführung der Experimente auf die spätere mikroskopische Untersuchung Rücksicht zu nehmen. Handelt es sich z. B. um eine sehr wenig umfangreiche Zerstörung des centralen Gewebes, wobei Aequivalentpräparate nur aus den Randpartien des erkrankten Gewebes zu erhalten sind, so kann er dieser Sachlage dadurch Rechnung tragen, dass er noch ein zweites oder drittes Thier in genau der gleichen Weise experimentell vorbereitet; lässt es das Experiment zu, so kommt der Experimentator in noch viel einfacherer Weise dadurch zum Ziel, dass er die gleiche Gewebsschädigung an mehreren Stellen desselben Thieres ausführt. Nun ist es ein leichtes, die eine Stelle zur Herstellung des Aequivalentbildes, resp. eines Ersatzpräparates zu benützen, während die andere Stelle mit einer Kaliumbichromatlösung u. s. w. behandelt wird.

Was nun die Herstellung der Aequivalentpräparate anlangt, so lehrt die Erfahrung, dass nur solche in sehr wenigen Fällen nicht gelingen. Blutungen z. B. geben, wenn sie nicht sehr umfangreich sind, meist gute Schnitte; das Gleiche gilt vielfach auch von Erweichungen, Geschwülsten u. s. w., allerdings fallen solche Schnitte in der wässerigen Farblösung unter dem heftigen Diffusionsstrom auseinander. Verbringt man jedoch einen solchen Schnitt nicht sofort ins Uhrschälchen, sondern träufelt dem auf dem Spatel ausgebreiteten Schnitt langsam die Farblösung tropfenweise zu, so dass die heftigsten Diffusionsströmungen auf dem Spatel sich vollziehen — dabei achte man aber darauf, dass nicht der völlige Gleichgewichtszustand schon auf dem Spatel eintritt —, so ist die Diffusionsströmung in der Farblösung so abgeschwächt, dass sie zwar noch ausreicht, um den Schnitt auf der Farblösung schwimmend zu erhalten, ein Auseinanderweichen desselben aber verhindert. Bei vorsichtigem Behandeln vermag man also selbst solche Schnitte noch zu retten. Zerbröckelt aber der Schnitt schon auf dem Spatel, so behandelt man die Bruchstücke auf dem Spatel weiter, also ebenso, wie ganz kleine Schnitte, z. B. durch ein Spinalganglion u. s. w.

Ist aber das erkrankte Gewebe derart, dass man unter keinen Umständen grössere zusammenhängende Schnitte erhält, so schneidet man sich einen oder mehrere kleine Gewebsblöcke derart aus der Randzone des erkrankten Gewebes aus, dass der ausgeschnittene Block nach der einen Seite ins schneidbare, besser erhaltene, Gewebe ragt, nach der anderen Seite jedoch noch zerstörtes Gewebe enthält. Erfahrungsgemäss zeigen solche Schnitte nach der einen Seite hin eine mehr weniger glatt begrenzte Fläche, während die dieser Seite gegenüber liegende Fläche fetzig und fransig aussieht. In der Regel enthalten aber diese zerfetzten Partien die charakteristischen Bildungen des erkrankten Gewebes. Jedenfalls kann man auf diese Weise selbst von einem zertrümmerten Gewebe noch Aequivalentpräparate erhalten. Beim Ausschneiden der Blöcke vermeide man, wenn möglich, Marklager und bevorzuge rein graue Gewebspartien; sodann berücksichtige man, dass kleine Schnittflächen leichter zu

schneiden sind als grosse, sowie dass kleinste Schnitte zweckmässig auf dem Spatel gefärbt werden, ferner dass beim Schneiden gar nicht selten eine kleine Aenderung in der Stellung des Gewebsblockes zu guten Schnitten führt, und endlich dass, wenn alle diese Massregeln sich als ungenügend erweisen, das sicherste Hilfsmittel die Vergrösserung der Schnittdicke bis zu 15 μ ist. Die bisherige Erfahrung lehrt, dass die Randpartien von zertrümmerten etc., uneingebettet nicht schneidbaren, Gewebsarealen fast immer kleinere und grössere Aequivalentpräparate geliefert haben.

Ersatzpräparate des Aequivalentpräparates kann man zwar in verschiedener Weise herstellen; die Erfahrung hat jedoch gelehrt, dass diejenigen Präparate die geringsten Abweichungen vom Aequivalentpräparat darbieten, welche in derselben Weise wie letztere gefärbt werden. Aus den bisherigen Ausführungen geht hervor, dass als Ersatzpräparate überhaupt nur Präparate in Betracht kommen, die regelrecht in 96%igem Alkohol vorbehandelt sind. Die Einbettung in Celloidin ist der Paraffineinbettung entschieden vorzuziehen. Das Celloidin muss aber tadellos sein. Aus 96%igem Alkohol kommen die Blöcke in absoluten Alkohol, der mit schwefelsaurem Kupfer wasserfrei gemacht wurde. Von da in dünnes Celloidin und sodann in dickes. Jedenfalls aber vermeide man die Ueberführung in ätherhaltigen Alkohol und lasse die Blöcke nur so lange in Celloidin, als es absolut nothwendig ist. Will man die Blöcke aufbewahren, so darf man unter keinen Umständen Holz oder Kork zum Aufkleben der Blöcke verwenden, sondern Stabilit. Aus dem dicken Celloidin wird der Gewebsblock auf den Stabilitblock verbracht und solange langsam mit dickem Celloidin übergossen, bis sich allenthalben eine ca. 1/2 Mm. dicke Randschicht gebildet hat. Das übliche starke Eintrocknen des Celloidins ist beim Nervensystem zu vermeiden. Sobald die 1/2 Mm. dicke Aussenschicht von Celloidin überall am Gewebe haftet, d. h. nicht mehr abträufelt, verbringe man den Block in 80%igen Alkohol und bewahre ihn auch hierin auf. Dabei erneuere man häufig den 80%igen Alkohol. Trotzdem halten sich die eingebetteten Präparate nicht sehr lange; immerhin aber bleiben sie bei fleissigem Wechseln des Alkohols monatelang brauchbar. Chloroform oder andere Erhärtungsmittel sind zu vermeiden. Ueber die Einbettung in Celloidin und Paraffin oder Celloidin, dem Cedernöl oder Nelkenöl beigefügt wurde, liegen noch keine Erfahrungen vor.

Die 10—15 μ dicken Schnitte werden zunächst im Uhrschälchen mit Seifenmethylenblau gefärbt; dabei aber erwärmt man die Lösung viel weniger stark, d. h man lässt es nicht soweit kommen, dass Luftbläschen aufsteigen. Sinkt der Schnitt unter, so fischt man denselben mit der Nadelspitze aus der Farbe. Von hier kommt er direkt in 96%igen Alkohol, wo man ihn rasch und nur so lange auswäscht, bis keine gröberen Farbwolken mehr abgehen; hierauf kommt er auf den Objektträger und wird in der bekannten Weise weiter behandelt.

Die Erfahrung lehrt, dass, wenn ein solcher Schnitt kein brauchbares Bild giebt, nicht selten eine andere Farbe sich besser erweist. Man versuche der Reihe nach Toluidinblau, Thionin und Dahlia. Alle diese Farben wendet man genau ebenso wie das Seifenmethylenblau in wässeriger Lösung etwa in einer Koncentration von 0,5—1,0:100 an; auch im übrigen ist die Behandlung die gleiche wie beim Methylenblau. Die mikroskopischen Bilder jedoch weichen in mehrfacher Hinsicht von dem Aequivalentbild ab.

Hier und da versagen aber sämmtliche Farben; in diesem Falle giebt merkwürdigerweise manchmal Vesuvin, Bismarckbraun und Neutralroth in genau derselben Anwendung relativ brauchbare Färbungen.

In sehr seltenen Fällen zeigen die Celloidinpräparate eigenartige Niederschläge; sie machen den Eindruck, als ob viel Staub auf den Schnitten liegen würde. Die Ursache dieser Erscheinung ist gänzlich unbekannt. Solche Präparate sind unbrauchbar. Diese äusserst seltene Erscheinung wurde übrigens auch bei Anwendung anderer Vorbehandlungsmittel, z. B. Salpetersäure, Formol, Sublimat, Pikrinsäure, Flemming'sche Lösung u. s. w., beobachtet.

Die histopathologische Analyse des centralen Nervensystems.

Es wurde bereits darauf hingewiesen, dass es keine histologische Sondertechnik für die Erforschung des feineren Baues des Centralnervensystems giebt, sondern nur specielle Verfahren, welche der Eigenart des Nervengewebes Rechnung tragen; häufig sind diese Verfahren gar nicht einmal ausschliesslich Methoden des Nervensystems, sondern sind auch bei andern Gewebsarten ausgezeichnet zu verwerthen. So eignet sich z. B. meine Methode — Fixirung des Gewebes in Alkohol — Ueberfärbung des Schnittes mit der wässerigen Lösung einer Farbbase (z. B. Fuchsin, Bismarckbraun, Methylenblau, Thionin, Toluidinblau, Neutralroth u. s. w.) — Differenzirung des überfärbten Schnittes in Alkohol oder einer alkoholhaltigen Flüssigkeit durch Auswaschen der nicht festhaftenden Farbe — irgend ein Intermedium, in dem keine Farbe weiter mehr ausgezogen wird, wie z. B Cajoputöl — Balsam — ausgezeichnet als Darstellungsverfahren für zahlreiche Zellleibsstrukturen,

z. B. Leber, Nieren, Pankreaszellen u. s. w. Die sogenannte WEIGERT'sche Mitosenfärbung ist in allen Geweben ausgezeichnet zu benützen. Die neue Neurofibrillenfärbung BETHE's, gewiss ein specielles Verfahren, ist eine vorzügliche Methode zur Färbung der elastischen Fasermembran in Gefässen u. s. w. Ganz ebenso verhält es sich aber auch mit den Verfahren, die als Specialmethoden anderer Organe angesehen werden oder überhaupt in der Histologie Verwendung finden. So ist z. B. die M. HEIDENHAIN'sche Eisenalaunhämatoxylinmethode ein ganz vorzügliches Verfahren auch für die Histologie des Nervensystems. Sie färbt nicht nur die Kerne der Nervenzellen, Gliazellen ausgezeichnet, sondern ist auch zur Darstellung der Gliafasern, des Pigmentes in Nervenzellen und Gliazellen, für die Gefässwandelemente zu verwerthen. Der Histologe des Nervensystems lässt sich keine technischen Vorschriften machen, wie er das Nervensystem untersuchen soll; massgebend sind ihm einzig und allein die allgemeinen Grundzüge der mikroskopischen Technik überhaupt. »Die mikroskopische Technik der Histologie des Nervensystems« ist keine Zusammenstellung von Vorschriften, nach denen das nervöse Gewebe technisch untersucht werden soll, sondern ist lediglich eine Zusammenstellung derjenigen Methoden, welche sich speciell beim Nervensystem bewährt haben, und derjenigen Erfahrungsthatsachen, welche bei der histologischen Untersuchung des Nervensystems zu berücksichtigen sind. Wesentlich anders ist die Sachlage bei der histopathologischen Untersuchung des Nervensystems. »Die mikroskopische Technik der Histopathologie des Nervensystems« muss nothwendig einen didaktischen Charakter tragen; dem Kliniker, welcher sein Sektionsmaterial histopathologisch bearbeiten will, ist nicht damit geholfen, dass er unter dem Titel: »Die mikroskopische Technik der Histopathologie des Nervensystems« etwa die unzähligen Methoden zusammengestellt findet, die sich als Darstellungsmittel für die Nervenzellen, Markfasern u. s. w. bewährt haben, sondern er verlangt klipp und klar bestimmte Vorschriften, die er bei der Bearbeitung seines Sektionsmateriales direkt benützen kann. Der in der histopathologischen Analyse des Nervensystems erfahrene Forscher bedarf keiner Anleitung und kommt kaum in die Lage, Erörterungen über »die mikroskopische Technik der Histopathologie des Nervensystems« nachzulesen.

Vor allem muss man sich darüber im klaren sein, was man untersuchen will. Es kann gar nicht bestimmt genug betont werden, dass es ein dilettantenartiges Verfahren ist, die Centralorgane deshalb in Formol vorzubehandeln, resp. darin aufzubewahren, weil auf diese Weise alle nur denkbaren Färbeverfahren ausgeführt werden können. Obschon die Einführung des Formols in die mikroskopische Technik einen grossen Fortschritt bedeutete und die vielseitige Verwerthung des mit Formol vorbehandelten Gewebes anerkannt werden muss, so können wir die Formolbehandlung des nervösen Gewebes doch keineswegs als dasjenige Vorbehandlungsverfahren bezeichnen, welches gleichzeitig die verschiedenen Elemente des Nervensystems in einer gleich guten Weise darzustellen erlaubt.

In erster Linie wird hervorgehoben, dass die Formolvorbehandlung einerseits die elektive Darstellung der Markscheiden nach WEIGERT, andererseits die elektive Färbung der Nervenzellen nach dem Principe der Ueberfärbung des Schnittes mit einer wässerigen Farbbasenlösung (speciell bei Fuchsin, Methylenblau, Vesuvin, Dahlia, Thionin, Toluidinblau, Neutralroth u. v. a.) und nachfolgender Differenzirung des überfärbten Schnittes durch Auswaschen der nicht festhaftenden Farbe in Alkohol erlaubt.

Gewiss kann man Formolpräparate mit Kaliumbichromatlösung nachbehandeln und die aus solchem Gewebe erhaltenen Schnitte nach der WEI-

GERT'schen Markscheidenmethode färben. Auch die PAL'sche Modifikation der WEIGERT'schen Methode und andere Ausführungsarten des WEIGERT'schen Principes der Markscheidenfärbung liefern aus derartigem Gewebe brauchbare Markscheidenpräparate. Bei histopathologischen Untersuchungen kommt es aber sehr oft darauf an, dass alle im Gewebe thatsächlich vorhandenen Markfasern ohne Ausnahme zuverlässig zur Darstellung gelangen. Bei der Beurtheilung des mit Formol vorbehandelten nervösen Gewebes handelt es sich daher nicht allein darum, dass man aus solchem Gewebe brauchbare Markscheidenpräparate erhält, sondern der Hauptnachdruck ist auf die Frage zu legen, ob das mit Formol vorbehandelte Gewebe eine in jeder Hinsicht sichere und vollständige Darstellung sämmtlicher Markscheiden erlaubt. Es lässt sich nicht leugnen, dass auch bei der WEIGERT'schen Originalvorschrift der Markscheidenfärbung die Gefahr der vorschnellen Entfärbung eines Theiles der Markscheiden nicht vollkommen beseitigt ist. Allein sie ist wenigstens nach Möglichkeit verringert, was man von den Modifikationen des WEIGERT'schen Verfahrens nicht immer behaupten kann. Es kommt aber hierbei nicht auf die Ausführung des Färbeverfahrens allein an, sondern auch auf die Vorbehandlung des Gewebes.

So gelangen z. B. die feinen Markscheiden der Tangentialfaserschicht des menschlichen Grosshirns viel sicherer in einem nach der älteren Vorschrift langsam bei Zimmertemperatur in der Kaliumbichromatlösung erhärteten Gewebsmaterial zur Darstellung, als wenn man das Gewebe möglichst rasch im Wärmeschrank schnittfähig zu machen sucht. Ebenso habe ich gefunden, dass die Entfärbung des mit Hämatoxylinlack überfärbten Schnittpräparates aus einem zuerst mit Formol vorbehandelten Gewebe in der WEIGERT'schen Differenzirungsflüssigkeit viel ungleichmässiger und unberechenbarer vor sich geht, als wenn das nervöse Gewebe in der geschilderten Weise mit Kaliumbichromatlösung allein gehärtet worden ist.

Ganz ähnlich ist die Sachlage bei der Gewinnung von Nervenzellenpräparaten aus dem mit Formol vorbehandelten Gewebe. Unter Umständen erhält man ebenso elektiv gefärbte Präparate wie nach Alkoholvorbehandlung; allein wenn sich auch gar nicht so sehr selten das mikroskopische Bild der Formolpräparate äusserlich kaum vom Aequivalentpräparate zu unterscheiden scheint, so vermag man sich doch mit Hilfe der Immersionslinse leicht zu überzeugen, dass hinsichtlich der feineren Strukturdetails der Nervenzellen, ihrer Kerne, ganz besonders aber auch der nicht nervösen Bestandtheile unverkennbare Unterschiede zwischen den beiden äusserlich kaum zu unterscheidenden Präparaten vorhanden sind. Diese Unterschiede sind jedoch keineswegs ausschlaggebend; denn niemand kann behaupten, dass die in den Formolpräparaten nachweisbaren strukturellen Verhältnisse weniger der Wirklichkeit entsprechen als die in den Aequivalentpräparaten zutage tretenden Substanzanordnungen. In der Histopathologie ist vielmehr der Umstand ausschlaggebend, ob man durch die Vorbehandlung des nervösen Gewebes mit Formol unter den gleichen Voraussetzungen mit Sicherheit bestimmt voraussagbare mikroskopische Bilder erhält. Wir haben uns bereits überzeugt, dass dieses Ziel bei der Formolvorbehandlung nicht erreicht werden kann.

Wenn aber auch die Formolvorbehandlung des nervösen Gewebes nicht das Verfahren ist, welches gleichzeitig die verschiedensten Elemente des Nervensystems in gleich vorzüglicher Weise mikroskopisch sichtbar zu machen ermöglicht, so ist damit keineswegs gesagt, dass nicht unter Umständen auch das mit Formol vorbehandelte nervöse Gewebe bei histopathologischen Untersuchungen vortheilhaft benutzt

werden kann. Namentlich gilt dies für jene Fälle, wo neben dem in Formol behandelten Gewebe noch richtige Aequivalentbilder zum Vergleiche zur Verfügung stehen. Es darf vor allem nicht übersehen werden, dass mit Rücksicht auf die Untersuchung von kranken Geweben und deren Inhalt, sowie der Meningen die Formolpräparate in keiner Weise dem mit Alkohol, Kaliumbichromatlösung u. s. w. vorbehandelten Gewebe nachstehen. Ja, wenn die Frage beantwortet werden soll, ob die in den Lymphscheiden sich stauenden oder die ins nervöse Gewebe ausgetretenen oder die in der Umgebung eines Solitärtuberkels u. s. w. befindlichen Blutzellen eosinophile oder neutrophile Granula besitzen, so führt ausschliesslich nur die Vorbehandlung des nervösen Gewebes mit Formol zum Ziele. Dazu kommt noch die Eigenschaft des mit Formol vorbehandelten Gewebes, dass man eventuell auch die WEIGERT'sche Gliafasermethode auszuführen imstande ist. In Thiergehirnen, in denen infolge eines experimentellen Eingriffes eine lebhafte Wucherung von Gliafasern eingetreten ist, gelangen die Gliafasern mit Hilfe der M. HEIDENHAIN'schen Eisenalaunhämatoxylinfärbung in Formolpräparaten besser und zahlreicher zur Darstellung als in mit Alkohol oder anderen Reagentien vorbehandelten Geweben. Endlich verdient noch erwähnt zu werden, dass unter Umständen das mit Formol behandelte Gewebe auch noch die Herstellung von MARCHIschen Präparaten ermöglicht. Ich habe nicht gefunden, dass die Einbettung in Celloidin oder Paraffin die Färbungsergebnisse des mit Formol vorbehandelten Gewebes irgend wie beeinträchtigt. Am zweckmässigsten halte ich die Vorbehandlung des nervösen Gewebes mit einer 10%igen Formollösung. Die einzulegenden Gewebsblöcke dürfen, wenn sie zur MARCHI'schen Reaktion oder zur Darstellung der Neurogliafasern benutzt werden, höchstens 3 Mm. tief sein. Für alle übrigen Zwecke kann man viel grössere Blöcke einlegen. Nach meiner Erfahrung soll man die Formolblöcke nicht zu alt werden lassen. Die Formollösung über den Gewebsblöcken soll stets wasserklar sein; getrübte Lösungen werden einfach erneuert.

Als das Formol noch nicht so allgemein angewendet wurde, als es heute der Fall ist, hat man das nervöse Gewebe zum Zwecke der histopathologischen Untersuchung vielfach in Sublimat fixirt. Einige Autoren hatten die Sublimatvorbehandlung bei der Untersuchung von Nervenzellenstrukturen besonders empfohlen und erklärt, dass die Sublimatfixirung der Vorbehandlung des nervösen Gewebes mit Alkohol unbedingt vorzuziehen sei, da derselbe auf das nervöse Gewebe viel zu sehr schrumpfend einwirke. Zur Verbreitung der Sublimatfixirung mag auch der Umstand beigetragen haben, dass die Histologen in den letzten Jahren die Sublimatfixirung ausserordentlich häufig benützten und bei der Darstellung der subtilsten Strukturverhältnisse mit diesem Reagenz ausgezeichnete Erfahrungen gemacht hatten. Fast gleichzeitig mit der Sublimatfixirung wurden auch Doppelfärbungen empfohlen und seither sowohl bei histologischen als auch bei histopathologischen Untersuchungen fleissig benutzt.

Derartige Doppelfärbungen sind in einer sehr einfachen Weise dadurch zu erzielen, dass man das in Alkohol, Formol, Sublimat oder in Salpetersäure fixirte Gewebsmaterial nach dem Principe der Ueberfärbung des Schnittes in einer wässerigen Farbbasenlösung und nachfolgender Differenzirung des überfärbten Schnittes mittels Auswaschen der nicht festhaftenden Farbe in Alkohol oder einer alkoholhaltigen Flüssigkeit färbt und diese Färbung mit der Färbung des Schnittes in einer Farbsäure kombinirt. Diese Färbung mit der Farbsäure kann sowohl in einer wässerigen als auch alkoholischen Lösung, und zwar vor der Färbung mit der Farbbase oder nach der Differenzirung des mit der Farbbase überfärbten Schnittes oder auch gleichzeitig mit der Farbbase vorgenommen werden. In letzterem Falle ist nur eine wässerige Lösung der Farbsäure zu benützen, welche der Farbbase beigemischt wird. Die Farbsäure wird gewöhnlich mit Wasser ausgewaschen; man kann aber auch Alkohol als Auswaschflüssigkeit benützen. Ich habe bereits oben auf den Umstand aufmerksam gemacht, dass die Farbsäuren ungleich festere Verbindungen mit dem nervösen Gewebe und den Nervenzellensubstanzen eingehen als die Farbbasen. Färbt man

daher einen Schnitt z. B. vor der Färbung mit der Farbbase in einer Farbsäure, so bleibt die Farbe wenigstens vieler Farbsäuren so fest am Schnitt haften, dass man alle Proceduren der Färbung mit der Farbbase vorzunehmen vermag, ohne befürchten zu müssen, dass die Farbsäure aus dem Schnitte entweicht. Selbstverständlich muss man zwei sich scharf von einander abhebende Farben wählen, wenn man eine schöne Doppelfärbung erzielen will. Wie es Farbbasen giebt, die sofort aus dem überfärbten Schnitt in das umgebende flüssige Medium diffundiren, wie z. B. Malachitgrün oder Gentianaviolett, so sind auch Farbsäuren vorhanden, die ebenfalls nur ganz locker mit dem Gewebe verbunden sind. Eigenartig ist die gegenseitige Beeinflussung der beiden Farbstoffe. Auch ist es nicht gleich, ob man die Farbsäure vor der Färbung mit der Farbbase auf den Schnitt einwirken lässt, oder ob man den mit der Farbbase gefärbten Schnitt mit der Farbsäure behandelt. Obschon man in beiden Fällen die gleichen Farben benützt, so sind doch die mikroskopischen Bilder nicht völlig identisch. Auch ist es nicht vollkommen gleich, ob man eine wässerige oder alkoholische Lösung der Farbsäure anwendet, sowie ob man die Farbsäure mit Wasser oder Alkohol auswäscht oder ob man gar den mit der Farbsäure, beziehungsweise mit der Farbbase überfärbten Schnitt, ohne auszuwaschen, in die Farbbase, resp. in die Farbsäurelösung überträgt — ein Modus, der gewöhnlich nicht angewendet wird. Am eigenartigsten aber sind die Resultate, wenn man gleichzeitig die Farbbase mit der — in diesem Falle nur — wässerigen Farbsäurelösung vermischt und mit dieser Mischung den Schnitt genau so färbt wie mit der Farbbasenlösung allein. In manchen Fällen — es kommt hier einzig und allein auf die Kombination der jeweilig gewählten beiden Farben an — resultirt keine ausgesprochene Doppelfärbung, sondern es gewinnt entweder die Farbbase oder die Farbsäure, oder auch eine Art Mischfarbe die Oberhand. Uebrigens gehört diese Form der Doppelfärbungen zu den sogenannten Kombinationsfärbungen; das klassische Beispiel hierfür ist die Färbung mit dem Biondi'schen oder Ehrlich'schen Dreifarbengemisch (Triacidfärbung). Am häufigsten wird wohl die Kombination Methylenblau-Erythrosin oder Methylenblau-Eosin benützt. Solche Doppelfärbungen werden gelegentlich auch bei Gewebsmaterial benützt, das in Pikrinschwefelsäure oder in dem Gehuchten'-Carnoy'schen Gemisch (Eisessig 1 Th., abs. Alkoh. 6 Th., Chloroform 3 Th.) vorbehandelt ist. Viele Autoren benützen die Paraffineinbettung; andere ziehen die Celloidineinbettung vor. Bei allen derartigen Doppelfärbungen färbt sich das zwischen den Nervenzellen gelegene Gewebe diffus, und zwar im Tone der Farbsäure; nur das Basichromatin der Kerne der Gliazellen und der Gefässwandelemente färbte sich theilweise im Tone der Farbbase. Was nun die Nervenzellen betrifft, so muss man die sich im Aequivalentbild intensiv, mittelstark und blass färbenden Substanztheile scharf auseinanderhalten. In der Mehrzahl der Fälle färben sich wohl die intensiv gefärbten Substanzen des Nervenzellkörpers fast regelmässig in der Farbe der Farbbase, während die im Aequivalentbild mit der Farbbase sich nicht tingirende Substanzgruppe bei Doppelfärbungen ungefähr im gleichen Farbton gefärbt wird wie das umgebende Gewebe. Man kann daher auch bei einer anderen Vorherbehandlung des Gewebes als mit Alkohol, Sublimat, Formol und Salpetersäure, z. B. bei der Vorbehandlung mit Pikrinschwefelsäure, ja sogar bei passender Auswahl der Farbstoffe bei der Fixirung mit chromsäurehaltigen Medien die analoge Doppelfärbung erhalten, wenn man nur die grosszelligen Nervenzellenarten berücksichtigt, in deren Zellleib reichliche Mengen von sich im Aequivalentpräparate intensiv färbenden Substanztheilen gleichmässig vertheilt sind (siehe oben im histolog. Theil). Aesthetisch befriedigende Doppelfärbungen resultiren dann, wenn es gelingt, das zwischen den Nervenzellen gelegene Gewebe möglichst blass im Farbton der Farbsäure zu tingiren, während die Färbung der sich im Aequivalentpräparat nicht tingirenden Substanzgruppe etwas satter ausfallen soll, so dass die im Farbton der Farbsäure gefärbten Nervenzellenbestandtheile sich immerhin von dem Zwischengewebe etwas abheben. Dieses Ziel ist bei den z. B. in Chromsäure enthaltenden Fixirmitteln kaum, bei den in Sublimat, Alkohol, Formol fixirten Gewebsblöcken unschwer zu erreichen. So kann man nach dieser Seite hin befriedigende Bilder z. B. mit der Held'schen Vorschrift (Erythrosin 1·0, Aq dest. 150·0, Eisessig 2 gtt. — meine Seifenmethylenblaulösung) bei dem mit Sublimat, Alkohol, Pikrinschwefelsäure etc. vorbehandelten und in Paraffin eingebetteten Gewebsmaterial erzielen. Wesentlich anders liegt die Sache bei Nervenzellenarten, in denen nur vereinzelte sich im Aequivalentpräparat intensiv färbende Substanzportionen etablirt sind, und wo neben den sich intensiv färbenden Gewebstheilen auch mittelstark und nur blass sich färbende Bestandtheile sich finden oder wo überhaupt nur mittelstark und blassgefärbte Substanztheile vorhanden sind. Ich habe mir die grösste Mühe gegeben, hierüber ins Klare zu kommen und bin dabei von bestimmten, wohlbekannten Zellarten ausgegangen. Allein es ist hier einfach nicht möglich, den Ausfall der Doppelfärbungen bestimmt zu charakterisiren. Man vermag sich an der Hand von aus demselben Fixirblock stammenden Schnitten von der Verschiedenheit des Färbeergebnisses der geschilderten Doppelfärbungen leicht zu überzeugen. Obwohl das Schnittmaterial durchaus die gleiche Nervenzellenart enthält und obschon die grösste Sorgfalt darauf verwendet wird, jeden Schnitt möglichst gleichmässig zu behandeln, fällt die Färbung dennoch sehr ungleich aus; in dem einen Schnitt färben sich die im Aequivalentpräparate mittelstark tingirten Substanzportionen sehr deutlich im Farbtone der Farbbase, im anderen Schnitt jedoch sind sie überhaupt nicht gefärbt, d. h. der ganze Zellleib hat sich bis auf einige körnerartige Gebilde, welche intensiv tingirten Substanzportionen ent-

sprechen und im Tone der Farbbase gefärbt sind, in der Farbe der Farbsäure imbibirt. Ja, in den Zellen, deren Aequivalentbild wenige intensiv tingirte Substanzportionen enthält, sind nicht einmal diese Bestandtheile stets zuverlässig im Farbtone der Farbbase gefärbt. Die im Aequivalentpräparat blass und nur mit einem Hauche der Farbe angefärbten Substanztheile sind durchweg im Tone der Farbsäure tingirt. Nur die Kerntinktion scheint einigermassen stabil zu sein. Analog den Doppelfärbungen mit zwei Anilinfarben verhalten sich die Doppelfärbungen mit Hämatoxylin-Eosin, Hämatoxylin-Erythrosin u. s. w. Ich kann jedoch an dieser Stelle nicht mehr weiter auf die Ergebnisse von Doppelfärbungen mit sauren und basischen Anilinfarben, sowie mit Hämatoxylin und Anilinfarben des näheren eingehen, obschon dieselben in färbetechnischer Hinsicht noch manches Interesse bieten. Ganz besonders interessant sind die Kombinationsfärbungen von zwei und mehr gleichartigen Farben; allein in histologischer und histopathologischer Hinsicht wissen wir mit den Ergebnissen dieser Färbungen noch recht wenig anzufangen.

Was die Sublimatvorbehandlung des Nervengewebes betrifft, so ist die Frage, ob die mit Sublimat vorbehandelte Nervenzellenstruktur mehr der Wirklichkeit entspricht als die im Alkoholpräparat zu Tage tretende Substanzanordnung, ein Problem der Histologie, zu dem die Histopathologie erst dann Stellung zu nehmen Ursache hat, wenn diese Frage definitiv gelöst ist. Zur Zeit können wir in der Histopathologie mit den Sublimatpräparaten deshalb wenig anfangen, weil wir kein Verfahren kennen, mit dessen Hilfe wir die Gesammtheit aller centralen Nervenzellen in einem bestimmt voraussagbaren mikroskopischen Strukturbild sichtbar zu machen imstande sind. Bei richtiger Fixirung des Gewebes mit Sublimat sind bezüglich der grosszelligen Nervenzellen die Unterschiede zwischen dem Alkohol- und Sublimatpräparat gar nicht so sehr in die Augen springend. Bei den kleineren und kleinsten Zellformen dagegen sind die Substanzanordnungen in Sublimatpräparaten viel weniger aufdringlich gezeichnet; Zellarten, die im Alkoholpräparat relativ leicht auseinander zu halten sind, unterscheiden sich im Sublimatpräparat nur wenig von einander Die netzförmige Anordnung der färbbaren Substanz, welche im Alkoholpräparat bei manchen Zellarten so scharf gezeichnet ist, dass wir dieselbe ohne jede Schwierigkeit im ABBE'schen Zeichenapparat nachzufahren vermögen, oder auf der photographischen Platte genau wiedergeben können, tritt in den entsprechenden Sublimatpräparaten nur andeutungsweise zu Tage. Diesem Verhalten der Sublimatpräparate entsprechen auch ihre tinktoriellen Eigenschaften. Während man in jedem vorschriftsmässig hergestellten Aequivalentpräparat die sich intensiv färbenden, die nur ganz blass oder gar nur mit einem Hauche von Farbe versehenen Substanztheile und endlich jene Anordnungen der färbbaren Substanz, welche weder intensiv noch blass tingirt erscheinen und daher von uns als mittelstark gefärbte Substanzportionen charakterisirt sind, bestimmt und sicher auseinander zu halten vermag, ist diese Unterscheidung in Sublimatpräparaten viel schwieriger und bei vielen Zellarten vermag man die verschiedenen Abstufungen in der Intensität der Färbung der einzelnen Anordnungen der sich mit Farbbasen tingirenden Substanzgruppe des Nervenzellenleibes überhaupt nicht zu erkennen.

Man könnte nun allerdings einwenden, dass die viel weniger ausgesprochenen, theilweise sogar direkt verwaschenen Strukturbilder der Sublimatpräparate eher zu Gunsten derselben auszulegen sind, während gerade die so überaus plastischen, ja oft geradezu greifbaren Substanzanordnungen der Aequivalentbilder den Verdacht auf Artefakte wachrufen.

Ich kann diesen Einwand nicht als berechtigt anerkennen. In seiner Konsequenz führt er nothwendig zu einem unhaltbaren Zustand. So lange wir nicht die wirkliche Struktur der Nervenzellen kennen, laufen alle Behauptungen über die Beeinflussung der Nervenzellensubstanzen durch die mikroskopisch-technische Behandlung auf eine unfruchtbare Kontroverse über den jeweiligen Grad der artificiellen Abweichung von der uns unbekannten

Nervenzellenarchitektonik hinaus. Anstatt sich an dieser Kontroverse zu betheiligen, halte ich es für richtiger, von jenem Kunstprodukt auszugehen, das unter allen Umständen stets das gleiche Verhalten darbietet. Diese Eigenschaft besitzen aber die Aequivalentpräparate, während sie den Sublimatpräparaten nicht zukommt. Uebrigens verdient noch ganz besonders hervorgehoben zu werden, dass das *Sublimatpräparat* mindestens *ebenso viele offenkundige artificielle Phänomene*, wie z. B. künstliche Schrumpfung, Absprengung einer oberflächlichen schmalen Wandschicht des Nervenzellenkörpers, künstliche Schwellung u. s. w. zeigt, wie das entsprechende Aequivalentpräparat und auch in dieser Beziehung sicherlich *keinen Vorsprung* vor letzterem besitzt.

Auch bezüglich der *Kerne der Nervenzellen*, sowie der nicht nervösen Bestandtheile weiss ich keine Thatsache zu nennen, welche es rechtfertigen könnte, den Sublimatpräparaten eine *besondere Rolle* bei der histopathologischen Untersuchung des Nervengewebes zuzuweisen.

Ich habe oben darauf hingewiesen, dass ungefähr gleichzeitig mit der Sublimatfixirung auch die *Doppelfärbungen* des Nervengewebes Verbreitung fanden und rasch beliebt wurden. Zunächst wurde vorzugsweise mit Sublimat vorbehandeltes Gewebe, späterhin jedoch auch Alkohol-, Formol-, Alkohol-Chloroform- = Essigsäurepräparate etc. doppelt gefärbt. Das wichtigste Vorbild dieser Doppelfärbungen ist die von HELD angegebene Erythrosin- = Methylenblaufärbung (Arch. Anat. 1896, pag. 399).

Mit diesen Doppelfärbungen dürfen nicht die schon früher geübten Doppeltinktionen zusammen geworfen werden. Eine der ältesten Doppelfärbungen ist die Hämatoxylin-Eosinfärbung; hierher gehört ferner die Nachfärbung von nach der WEIGERT'schen Methode hergestellten Markscheidenpräparaten und ebenso die Nachfärbung von MARCHI'schen Präparaten; ferner ist an dieser Stelle die beliebte VAN GIESON'sche Methode zu nennen; weiterhin ist aufzuführen die ROSIN'sche Färbung; endlich weise ich noch auf die REHM'schen Doppelfärbungen hin.

Die moderne Histopathologie verzichtet auf den grösseren Theil dieser Doppelfärbungen. Jedenfalls hat es nicht den geringsten Zweck, WEIGERT'sche Markscheidenpräparate und MARCHI'sche Schnitte nachzufärben; ebenso ist die ROSIN'sche Färbung gegenstandslos. REHM (Münch med. Woch., 1892, pag. 217) hat eine ganze Reihe von Fäbeverfahren angegeben, welche zwar entbehrt werden, unter Umständen jedoch mit Vortheil benützt werden können. Man erhält aus den REHM'schen Präparaten nicht *besondere* Aufschlüse, wohl aber illustriren sie gewisse Bauverhältnisse in äusserst klarer Weise; so treten z. B. in einem der REHM'schen Präparate die *Unterschiede zwischen den Gliakernen und kleinen Ganglienzellkernen äusserst sauber* zutage. Wenn auch das Aequivalentpräparat die UNNA-MARSCHALKO'schen *Plasmazellen* vorzüglich zur Darstellung bringt, so ist es doch manchmal angenehm, noch ein *zweites sicheres Kriterium für die Erkennung dieser Zellart zu besitzen*. Die von REHM unter II. *angegebene Färbung von Methylenblau — alkoholische Fuchsinlösung ist in der That ein solches Kriterium*; in den mikroskopischen Präparaten *unterscheiden sich die Kerne der Plasmazellen ohne weiteres von den Kernen der übrigen Lymphocyten*. An dieser Stelle füge ich gleich ein, dass die moderne *Histopathologie zur Darstellung der Granulationen in den Lympho- und Leukocyten den gesammten technischen Apparat hierfür benöthigt; ich wiederhole, dass die eosinophilen Granulationen ausschliesslich nur in dem mit Formol vorbehandelten nervösen Gewebe sichtbar gemacht werden können*. Endlich ist noch zu erwähnen, dass auch die moderne Histopathologie *nicht* auf die VAN GIESON'sche *Färbung verzichtet*. Stehen dem Untersuchenden *in Kaliumbichromatlösung erhärtetes Gewebe* zur Verfügung, so leistet die VAN GIESON'sche *Färbung* nicht nur *hinsichtlich der erkrankten Gefässe, sondern auch des gliösen Gewebes recht gute Dienste*. Man färbt mit BÖHMER'schem oder DELAFIELD'schem Hämatoxylin ganz leicht und kurz vor. Der aus dem Wasser kommende Schnitt wird in der Mischung von gesättigter Pikrinsäurelösung 100 Theile mit 1%igem Säurefuchsin 5 Theile tingirt; sodann folgt kurzes Auswaschen in Wasser. Hierauf wird der Schnitt rasch durch Alkohol und Origanumöl (Cajeputöl) geführt und eingebettet.

Während die soeben erörterten Doppelfärbungen in der Histopathologie des Nervensystems wenigstens zum Theil ganz gute Dienste leisten, ist es schwer zu sagen, zu welchem Zwecke Doppelfärbungen nach dem Vorbild der HELD'schen Erythrosin-Methylenblaufärbung dienen sollen. Derartige Färbungen mögen unter Umständen dem Histologen nützlich sein; in der Histopathologie dagegen sind sie vollständig überflüssig. Es wäre aber geradezu ein Kunstfehler, wenn man bei histopathologischen Untersuchungen sich mit derartigen Doppelfärbungen allein begnügte.

Eines der wichtigsten Kriterien der krankhaften Veränderungen ist das Verhalten der sich nicht mit Farbbasen färbenden Substanzgruppe des Nervenzellenleibes. Ebenso wichtig ist das Verhalten der sich färbenden Substanzgruppe. In den doppelgefärbten Präparaten dagegen gelangen nur sehr grobe Veränderungen der Nervenzellen zur Darstellung. Der grosse Vorzug des Aequivalentpräparates liegt gerade in dem Umstand, dass die verschieden intensiv tingirten Substanztheile sich klar und scharf von den nicht gefärbten abheben. Sobald aber die sich nicht färbende Substanzgruppe in demselben Tone der Farbsäure gefärbt ist wie die Umgebung, heben sich erstere nicht mehr von der Umgebung genügend deutlich ab; es ist also ausgeschlossen, mässige Grade der Zellerkrankungen, bei denen die sich nicht färbende Substanzgruppe verändert ist, zu diagnosticiren. In den Aequivalentpräparaten sind die ungefärbten Bahnen der Ausdruck von Neurofibrillenzügen. Seitdem wir gelernt haben, auf die ungefärbten Bahnen zu achten, sind uns die Anordnungsverhältnisse der sich mit Farbbasen tingirenden Substanzgruppe des Nervenzellenkörpers viel klarer geworden; ja gewisse Phänomene in der Anordnung der sich färbenden Substanzgruppe, wie z. B. die Auflösung eines grösseren zusammenhängenden Körperchens der sich intensiv färbenden Substanz (wie wir sie z. B. in den Kernkappen oder in den Verzweigungskegeln beobachten) in eine ganze Anzahl sehr kleiner intensiv gefärbter Körperchen, welche in ihrer Gesammtheit den grösseren Körper vertreten und ihn gewissermassen ersetzen, sind uns erst durch das Studium der ungefärbten Bahnen klar geworden; wie wichtig aber die Kenntniss dieser Dinge ist, geht ohne weiteres aus der Thatsache hervor, dass durch das soeben geschilderte Phänomen — ich nenne es das »Phänomen der Dissociation der färbbaren Substanzportionen« — die so überaus typische Zeichnung eines Zellindividuums der motorischen Zellart sich gänzlich verändern kann, wenn viele oder gar alle grösseren zusammenhängenden intensiv gefärbten Substanzportionen einer solchen Zelle das Phänomen der Dissociation darbieten; ja die Wirkung desselben kann so weit gehen, dass die sich färbende Substanzgruppe einer motorischen Zelle eine fast netzförmige Anordnung darbietet. Für die histopathologische Untersuchung ist es aber von der allergrössten Wichtigkeit, die einzelnen Nervenzellenarten scharf auseinander zu halten. Sobald man jedoch ein doppelgefärbtes Präparat zu beurtheilen hat, kann man das Kriterium der ungefärbten Bahnen nicht mehr benützen, denn diese Bahnen sind nur mehr ganz vereinzelt und auch dann nur unbestimmt zu erkennen. Vor allem muss hervorgehoben werden, dass solche Präparate auch von den gefärbten Substanztheilen eine ganz irrthümliche Vorstellung geben. Ich brauche diese Behauptung nicht eigens zu begründen, nachdem wir uns bereits oben mit dem Verhalten der sich im Aequivalentpräparat nur blass und mittelstark färbenden Substanztheile des Nervenzellenleibes beschäftigt haben. Nur muss ich noch auf den wichtigen Umstand hinweisen, dass die in doppelgefärbten Präparaten in der Farbe der Farbsäure tingirten Zellbestandtheile nicht immer der Ausdruck von der sich im Aequivalentbild nicht färbenden Substanzgruppe des Nervenzellkörpers sind, sondern vielfach neben den sich im Aequivalentbild nicht tingirenden Substanztheilen auch noch ausserdem reichliche Theile der sich im Aequivalentpräparat blass und mittelstark färbenden Substanztheile enthalten. In solchen Fällen ist aber das optische Verhalten der im Tone der Farbsäure gefärbten Substanz des Nervenzellenleibes ein anderes, als wenn die im Tone der Farbsäure tingirten Bestandtheile ausschliesslich nur den sich im Aequivalentbild nicht färbenden Substanzen entsprechen und kann daher leicht zu falschen Deutungen Anlass geben.

An dieser Stelle haben wir noch eines weiteren Umstandes zu gedenken, der für die histopathologische Untersuchung von der allergrössten Bedeutung ist. Seitdem durch WEIGERT's bahnbrechende Forschungen die bis dahin dunklen Verhältnisse der Glia aufgeklärt worden sind, ist auch die histopathologische Untersuchung der erkrankten Glia in ein neues Stadium getreten. Wir wissen, dass die Glia aus Zellen und aus Fasern besteht, welche von den Gliazellen producirt werden. Letztere können sich von den Zellen emancipiren und bilden dann theils Geflechte, theils treten sie als eine Ausfüllsubstanz zwischen den specifisch funktionirenden Gebilden auf.

Leider sind wir darüber noch nicht orientirt, ob alle nicht nervösen Zellen der Centralorgane Gliafasern produciren, so z. B. die Zellen des Ependyms. Das Kriterium einer Gliazelle ist jedenfalls die Gliafaser. Wir definiren daher als Gliazellen jene Zellen des äusseren Keimblattes, die potentia die Fähigkeit haben, Gliafasern zu produciren. Ganz kurz sei darauf hingewiesen, dass durch die jüngsten Untersuchungen die Frage gegenstandslos geworden ist, ob die Gliafasern Zellausläufe sind oder im Sinne WEIGERT's besonders differenzirte Fasern darstellen, welche sich von den Zellen emancipiren. Die Wahrheit liegt in der Mitte. Es giebt sowohl Gliafasern im Sinne WEIGERT's als auch Ausläufer der Gliazellen; letztere sind aber nicht besonders differenzirtes Protoplasma, sondern haben denselben protoplasmatischen Charakter wie die Zellkörper der Gliazellen. Endlich steht fest, dass die Beziehungen zwischen der Glia und den Gefässen sehr innig sind, und zwar sind sie doppelter Art. Einmal bilden die Gliafasern eine filzige Scheide um die Gefässe; zweitens treten die protoplasmatischen Ausläufer und unter Umständen die Gliazellen selbst mit den Gewässwänden in direkte Beziehung, die namentlich unter pathologischen Bedingungen sehr innig sein können. Damit aber sind die Aufgaben, welche der Histopathologie hinsichtlich der nichtnervösen Bestandtheile harren, klar vorgezeichnet. Die Histopathologie darf sich nicht damit begnügen, Kernwucherungen der Glia sowie das Verhalten der Gliafasern festzustellen; ihre Aufgabe geht auch dahin, das Verhalten der Zellkörper der Gliazellen, deren Beziehungen zu den Gliafasern und andererseits zu den Gefässen festzustellen; weiterhin aber hat sie auch zur Lösung der Frage beizutragen, ob es auch Zellen nicht nervöser Natur im Centralorgan giebt, welche nicht Gliazellen sind, also nicht die Fähigkeit besitzen, Gliazellen unter Umständen zu differenziren.

Die technischen Hilfsmittel, welche der Histopathologie zur Verfügung stehen, um diesen Aufgaben gerecht zu werden, sind die WEIGERT'sche Neurogliafasermethode, ferner die M. HEIDENHAIN'sche Eisenalaunhämatoxylinmethode, drittens das Aequivalentpräparat. Es sind noch eine Reihe anderer Verfahren bekannt, welche ebenfalls zur Untersuchung der Glia benutzt werden können. Allein sie sind nur unterstützende oder wenn man will, ergänzende Hilfsmittel der drei genannten Hauptverfahren.

Auf die Neurogliafasermethode WEIGERT's gehe ich nicht näher ein, da sie besonders erörtert wird.

Nur einige Punkte seien speciell mit Rücksicht auf die Histopathologie hervorgehoben.

In Fällen, wo die Sektion sehr spät gemacht wird, z. B. 20 Stunden nach dem Tode oder in Fällen, wo die Agonie sehr lange (etwa bis zu 20 Stunden) gedauert hat, ist es ganz zwecklos, Material für die WEIGERT'sche Färbung einzulegen; denn in diesen Fällen erhält man keine brauchbaren Neurogliafaserpräparate; ist jedoch ein Gliom vorhanden oder ein Fall, wo eine sehr excessive Bildung von dicken, massigen Gliafasern zu erwarten steht, so kann man die WEIGERT'sche Färbung trotzdem versuchen. Versagt die WEIGERT'sche Färbung, so versagt auch die Färbung der Gliafasern nach MALLORY.

Für Thiere giebt es noch keine Gliafaserfärbung. Um die Gliafasern bei Thieren wenigstens theilweise sichtbar zu machen, versucht man die M. HEIDENHAIN'sche Färbung. Es kann in diesem Falle das thierische Gewebe in Alkohol, Formol, Sublimat oder in Kaliumbichromat oder in der ZENKER'schen Lösung u. s. w. vorbehandelt sein. Manchmal leistet in diesem Falle die VAN GIESON'sche Methode gute Dienste. Dann aber soll das Gewebe in Kaliumbichromatlösung vorbehandelt sein. Freilich sind im VAN GIESON'schen Präparat die Gliafasern und die protoplasmatischen Fortsätze nicht immer in wünschenswerther Klarheit von einander geschieden.

Sollen also die Gliafasern und die Gliazellen gleichzeitig dargestellt werden und führt die M. HEIDENHAIN'sche Färbung nicht zum Ziel, so empfiehlt es sich, auch beim Menschen die VAN GIESON'sche Färbung (Kaliumbichromatvorbehandlung) anzuwenden. Auf andere Methoden der Gliafaserndarstellung kann man verzichten.

Für die Untersuchung der Gliazellen und ihrer Fortsätze ist das Aequivalentpräparat das beste Hilfsmittel, das wir zur Zeit besitzen. Es bedarf einiger Uebung, um die kaum gefärbten Zellkörper der Gliazellen zu erkennen. Das Aequivalentpräparat muss genau nach Vorschrift hergestellt sein. Man untersucht mit offenem Kondensor. Am schwierigsten sind die Zellkörper der normalen Gliazellen zu erkennen. In diesem Falle ist sogar meist nur ein Theil des Zellleibes überhaupt zu sehen. Hat man sich aber einmal daran gewöhnt, bei jedem einzelnen Gliazellkern den Zellleib aufzusuchen, so wird man bald dahin gelangen, mehr zu erblicken als eine minimale wolkenähnliche Verdichtung in der Umgebung der Gliakerne. Die pathologischen Veränderungen der Gliazellen dagegen sind viel leichter mit Hilfe des Aequivalentpräparates zu analysiren.

Meine Methode — Ueberfärben des in Alkohol, Formol, Sublimat, Salpetersäure vorbehandelten Schnittes mit einer wässerigen Farbbasenlösung — Differenzirung des überfärbten Schnittes mittels Auswaschen der nicht festhaftenden Farbe in 96%igem Alkohol oder einer alkoholhaltigen Flüssigkeit — Intermedium, das keine Farbe mehr auszieht, wie z. B. Cajeputöl — liefert unter Umständen ebenfalls mikroskopische Bilder, die zum Studium der Strukturverhältnisse und der krankhaften Veränderungen der Gliazellen ausreichen und den Aequivalentpräparaten nicht nachstehen. Allein wenn man absolut sicher sein will, dass unter allen Umständen die Färbung gelingt, und dass die gliösen Verhältnisse sich stets im gleichen mikroskopischen Bilde präsentiren, dann führt nur ein einziger Weg zum Ziele: nämlich das Verfahren, welches Aequivalentpräparate liefert. Alles, was ich über die Nervenzellendarstellung im Aequivalentpräparat gesagt habe, gilt ebenso von der Darstellung der Gliazellkörper und ihrer protoplasmatischen Ausläufer.

Wer bei seinen histopathologischen Untersuchungen auf das Aequivalentpräparat verzichtet und statt dessen Doppelfärbungen benützt, die nach dem Paradigma der Held'schen Erythrosin-Methylenblaufärbung hergestellt sind, macht sich hinsichtlich der Nervenzellen eines Kunstfehlers schuldig und verzichtet von vornherein darauf, Aufschluss über die Veränderungen der Zellkörper der Gliazellen und über die etwa vorhandenen Beziehungen zwischen Gliazellen und den Gefässwänden zu erhalten.

Die Gründe sind ganz ähnlich den Ursachen, warum doppelt gefärbte Präparate keinen oder nur einen mangelhaften Einblick in das Verhalten der sich im Aequivalentpräparat nicht färbenden Substanzgruppe der Nervenzellen gewähren. Die Gliazellkörper präsentiren sich im Aequivalentpräparat als eine blassblaugraue, wolkige, meist nur sehr kleine Verdichtung in der unmittelbaren Umgebung der Gliakerne. Färbt man aber die Präparate doppelt, so färbt sich auch das zwischen den Nervenzellen, Gliakernen und Gefässen gelegene Gewebe im Tone der Farbsäure; nunmehr hebt sich nicht mehr jene kleine Verdichtung in der Umgebung der Gliakerne von dem übrigen Gewebe ab; auch unter pathologischen Verhältnissen erkennt man in doppelt gefärbten Präparaten nur jene mächtigen Zellkörper der Glia, welche man auch bei Anwendung anderer Methoden wahrnimmt. Allein die so wichtigen Protoplasmarasen mit ihrem interessanten Besatze, jene gewucherten Gliazellkörper, die im Aequivalentpräparate zwar nur ganz blassblau tingirt, aber doch sehr leicht zu sehen sind, ferner die eigenthümliche Bildung von Kämmen auf dem Zellleib, die bürsten- oder bartähnlichen Randpartien gewisser Zellkörper, die zarten protoplasmatischen Zellkörper, welche von neugebildeten Gefässen durchbohrt werden, oder die Protoplasmaschleier, welche solche Gefässe tragen und noch vieles andere — von alledem geben doppelgefärbte Präparate keinen Aufschluss; alle diese im Aequivalentbild in grösster Klarheit zutage tretenden pathologischen Zustände fehlen nicht im doppeltgefärbten Präparate; sie heben sich nur nicht ab, da sie ebenso im Tone der Farbsäure gefärbt sind wie die Umgebung.

Aber es sind nicht nur diese im Tone der Farbsäure gefärbten Gebilde nicht zu erkennen, sondern auch gewisse Gebilde der im Tone der Farbbase tingirten Gliabestandtheile. Seitdem man angefangen hat, die Aequivalentpräparate auch zum Studium der nicht nervösen Zellen zu verwerthen, sind uns eine ganze Anzahl von neuen Thatsachen bekannt geworden. So ist es eines der sichersten Zeichen der wuchernden Gliazellen, dass die Gliazellkerne im Aequivalentpräparate keinen Inhalt erkennen lassen, sondern in dem von der Kernmembran

umschlossenen gänzlich ungefärbten Kerne nur ein einziges mit Methylenblau intensiv gefärbtes Körnchen zeigen, das häufig der ebenfalls gefärbten Kernmembran dicht anliegt. In anderen Fällen zeigt der Kern gewucherter Gliazellen ein ganz anderes Verhalten; der Kerninhalt ist dicht mit blassblau gefärbten Körnchen und Krümmelchen angefüllt. Ferner weise ich auf alle Arten des sogenannten Besatzes des gliösen Protoplasmas hin, welcher sich ebenfalls im Tone der Farbbase tingirt u. s. f. Alle derartigen, früher nicht gekannten Bildungen werden im doppelgefärbten Präparate übersehen, obschon sie sich im Tone der Farbbase färben. Da diese Bildungen meist sehr klein sind, heben sie sich nicht genügend deutlich von dem diffus im Tone der Farbsäure gefärbten Zwischengewebe ab.

Diese Ausführungen beweisen schlagend, dass die doppelt gefärbten Präparate das Aequivalentpräparat nicht zu ersetzen vermögen; der Umstand, dass die Aequivalentpräparate das beste, uns heute zur Verfügung stehende Hilfsmittel zur Untersuchung nicht nur der kranken Nervenzellen, sondern auch der veränderten, nicht nervösen Zellen sind, sichert dem Verfahren der Herstellung von Aequivalentpräparaten einen hervorragenden Platz in der mikroskopischen Technik der histopathologischen Untersuchung der Centralorgane. Die vielseitige Verwerthung der Aequivalentpräparate ist besonders bei der experimentellen Forschung von Wichtigkeit. Leider besitzen wir noch kein Verfahren, das uns erlaubt, die Veränderungen der Gliafasern im thierischen Centralorgan genauer zu ermitteln. Dasselbe gilt von denjenigen menschlichen Gehirnen, die wir erst spät nach erfolgtem Tode oder nach langer Agonie zur Untersuchung erhalten und bei denen die Weigert'sche Gliafasermethode versagt. Hier nun setzt das Aequivalentpräparat ein. Erhalten wir auch keinen völligen Einblick in die Gliafaserverhältnisse, so vermögen wir doch auf Grund des Ergebnisses der Untersuchung der Gliazellkörper einen Schluss auch auf das Verhalten der Gliafasern zu ziehen.

Die Aufschlüsse, die uns das Aequivalentpräparat über die Kerne der Nervenzellen giebt, sind histologisch wenig befriedigend, genügen aber bei der histopathologischen Untersuchung.

Ich habe früher empfohlen, bei den histopathologischen Untersuchungen der Nervenzellenkerne diejenigen technischen Verfahren anzuwenden, welche erfahrungsgemäss die besten Kernbilder der Nervenzellen liefern. Ein hervorragendes Darstellungsverfahren für die Nervenzellenkerne ist die Färbung des mit fast allen chromsäurehaltigen Flüssigkeiten, speciell der Flemming'schen Lösung vorbehandelten Gewebes mit Hämatoxylinlösungen oder mit der M. Heidenhain'schen Eisenalaunfärbung. Ausgezeichnete Bilder giebt auch das Hermann'sche Gemisch; für manche Zellarten ist zu empfehlen die Salpetersäure und die Pikrinsäure. Das in dieser Weise vorbehandelte Gewebe kann entweder mit Hämatoxylin oder mit Hämatoxylin-Eosin oder mit der M. Heidenhain'schen oder der Weigert'schen Mitosenfärbung tingirt werden. Man erhält auf diese Weise fast durchwegs gute und sehr scharfe Kernbilder; leider wird aber das Ergebniss häufig durch partielle Schrumpfungen in Verbindung mit Chromophilie der geschrumpften Kerne beeinträchtigt (siehe oben). Allein ich habe mich überzeugt, dass diese Kernbilder für die histopathologische Untersuchung noch keinen Werth haben. Einmal beweist das Phänomen der reciproken Färbung (siehe oben), dass uns die Strukturverhältnisse der Kerne noch keineswegs vollkommen bekannt sind; was aber noch wichtiger ist, ist der Umstand, dass die Präparate, welche die Kerne ausgezeichnet darstellen, uns nicht erlauben, die zu den Kernen gehörigen Nervenzellen als Zellen einer bestimmten Nervenzellenart zu identificiren.

Unter solchen Umständen ist es viel richtiger, bei der histopathologischen Analyse von jenen Kernbildern auszugehen, welche das Aequivalentpräparat liefert. Zum besseren Verständniss der feineren Veränderungen der Zellkerne der Nervenzellen kann man sich an der Hand histologischer Präparate, bei denen man Chromsäurelösungen oder das Flemming'sche Gemisch als Vorbehandlungsreagentien anwendet, informiren. Genau dasselbe gilt für die feineren Strukturverhältnisse der Kerne der nicht-nervösen Zellen. Auch hier ist es zweckmässig, bei der histopathologischen Untersuchung von den Bildern des Aequivalentpräparates auszugehen.

Zur Orientirung über die feineren Strukturverhältnisse der Kerne der Nervenzellen und der nicht nervösen Zellen reicht gewöhnlich schon das in Alkohol

vorbehandelte Material aus. Nur muss man die Schnitte, die für diesen Fall auch in Celloidin eingebettet sein können, mit Boehmer'schem oder Delafield'schem oder Friedländer'schem Hämatoxylin oder mit Hämatoxylin-Eosin färben. Gute Kernbilder erhält man auch mit der M. Heidenhain'schen oder der Weigert'schen Mitosenfärbung; ferner sind empfehlenswerth die Rehm'schen Methoden; will man nach meiner Methode färben, so sind bei uneingebettetem Material gewisse Fuchsinsorten oder Dahlia vorzuziehen; man differenzirt einfach in 96%igem Alkohol und verwendet als Intermedium Nelkenöl, wo die Differenzirung noch um einen Schritt weiter getrieben wird; in Celloidin oder Paraffin eingebettetes Alkoholmaterial färbt man zweckmässiger in wässerigen Lösungen von Dahlia, Thionin, Toluidinblau, Vesuvin oder in polychromem Methylenblau.

Was die mitotischen Figuren der sich theilenden Gliazellen betrifft, so geben alle Verfahren, die Mitosen überhaupt gut darstellen, prächtige Bilder. Früher benützte ich vielfach in Alkohol vorbehandeltes Material, das ich nach der Weigert'schen Mitosenfärbung tingirte. Allein die Untersuchungen der letzten Jahre haben gelehrt, dass man vollkommen mit den Aequivalentpräparaten ausreicht. Allerdings sind die mitotischen Figuren bei der Alkoholvorbehandlung meist verzerrt und manchmal zu einem Klumpen zusammengeschnurrt. Allein bei einiger Erfahrung lernt man dieselben kennen und sicher von ähnlichen Gebilden, z. B. von chromophilen Kernen unterscheiden. Der Anfänger freilich wird zweckmässig die mitotischen Figuren der Gliazellen erst in tadellosen Präparaten studiren. Man bohrt in den Schädel des Kaninchens zwei feine Löcher, das eine über der rechten, das andere über der linken Hemisphäre und reizt sodann die Hirnrinde mit glühenden Nadeln, mit denen man die Rinde einfach durchsticht. Nach 5 Tagen behandelt man die eine Hemisphäre mit Flemming'scher oder Hermann'scher Flüssigkeit vor und färbt mit Hämatoxylin, während die andere Hemisphäre in 96%igem Alkohol fixirt und mit der Weigert'schen Mitosenfärbung tingirt wird. Später macht man aus demselben Material Aequivalentpräparate. Auf diese Weise lernt man zuverlässig die Mitosen des Aequivalentpräparates kennen. Die Mitosen des menschlichen Gehirns verhalten sich ganz ähnlich.

Endlich sind die Aequivalentpräparate auch zum Studium der erkrankten Gefässe (Blut- und Lymphgefässe) zu benützen. Insbesondere wüsste ich kein besseres Verfahren zur Feststellung proliferirender Gefässe anzugeben. Auch der zellige Inhalt der Gefässe lässt sich im Aequivalentpräparat ausgezeichnet analysiren. Namentlich sind die Bilder der Unna-Marschalko'schen Plasmazellen durchaus charakteristisch. Ebenso gelangen die basophilen Granulationen, speciell die Granulationen der Ehrlich'schen Mastzellen vorzüglich zur Darstellung. Dies gilt auch für die basophilen Lympho- und Leukocyten, die sich in Erweichungsherden, in Blutergüssen, in Abscessen u. s. w. finden. Nicht minder distinkt sind in den Aequivalentpräparaten die sogenannten Körnchenzellen oder, wie sie auch benannt werden, die epitheloiden Zellen, natürlich ohne fettigen Inhalt dargestellt. Die häufig zu beobachtenden Mitosen dieser Elemente und ihre regressiven Metamorphosen, sowie die von ihnen phagocytär aufgenommenen Bestandtheile wie rothe Blutzellen, Zerfallsprodukte, experimentell zugeführte Substanzen u. s. w. sind, soweit sie sich optisch von der Umgebung abheben oder mit Methylenblau gefärbt sind, ebenfalls ausgezeichnet zu erkennen. Dasselbe gilt von den mit diesen epitheloiden Zellen nahe verwandten Granulationszellen oder Fibroblasten und den aus dem mittleren Keimblatt stammenden Riesenzellen, welche alle in innigster Beziehung zu den Gefässwandzellen stehen. Dementsprechend reicht auch das Aequivalentpräparat zum Studium der Granulationsgeschwülste (Gummata und Tuberkel) und der übrigen Tumoren (Sarkome, Gliome, Karcinome u. s. w.) aus. Schliesslich giebt das Aequivalentpräparat genügenden Aufschluss über die Kerne der Endothelzellen der Intima, ihre Sekretionsvakuolen und über gewisse pathologische Veränderungen ihres Protoplasmaleibes, ferner über die Kerne der Muskelzellen und die Pigmente, die unter pathologischen Verhältnissen in den Zellkörpern gewisser Adventitialzellen zu finden sind. Erwähnenswerth ist noch der Umstand, dass auch die für die Diagnose der Paralyse nicht unwichtigen stäbchenförmigen Kerne nicht nervöser Zellen, deren Bedeutung und Abkunft noch unklar ist, im Aequivalentpräparat ebenfalls zur Darstellung gelangen.

Ungefärbt bleiben im Aequivalentpräparat die Bildungen des Elastins Hyalins u. s. w., ferner die Zellkörper der gesunden Endothelzellen der Intima, sowie die Kittlinien derselben, ferner die Zellkörper der Gefässmuskelzellen und die nervösen Apparate der Gefässe; ungenügend werden dargestellt die Zellen der Adventitia. Endlich ist an dieser Stelle der grossen Nachtheile des Nichteinbettens der Aequivalentpräparate zu gedenken: Einmal ist es im Interesse der Schnittherstellung geboten, die Häute abzuziehen; infolge dessen werden viele Gefässe aus dem Nervensystem herausgezogen und es gelangen auch nicht die Beziehungen der Oberfläche der Centralorgane zu den Meningen zur Darstellung. Zweitens lassen sich mitten aus den Erweichungsherden, aus Geschwülsten, aus den Abscessen und Blutergüssen sehr oft keine Aequivalentpräparate gewinnen.

Bezüglich der Fälle, wo sich keine Aequivalentpräparate gewinnen lassen, wurden bereits die nothwendigen Fingerzeige gegeben.

In Fällen, wo eine Gefässerkrankung vorliegt, bedarf es keiner besonderen Vorbehandlungsmittel. Zum Studium der elastischen Fasern und der äusserst wichtigen Membrana fenestrata kommt man vollständig mit der Weigert'schen Färbung der elastischen Fasern aus. Dieselbe kann angewandt werden bei dem in Formol und in Alkohol vorbehandelten Gewebe mit und ohne Einbettung. Da auch die feinsten Kapillaren eine elastische Membran besitzen, liefert diese Methode ein ausgezeichnetes Uebersichtspräparat über die im Gewebe vorhandenen Gefässe.

Will man speciell die Gefässe studiren, so verfährt man nach den Regeln, die oben angegeben wurden. Um die Membrana fenestrata isolirt studiren zu können, schneidet man die Arterien (und zwar in allen Kalibern) vorsichtig auf und steckt das aufgeschnittene Gefäss mit Nadeln fest und streicht sodann mit einem Messer zuerst die Intima ab, sodann die Muscularis. Auf diese Weise kann man alle Schichten isoliren und nach Bedarf färben. Die Intima und Adventitia färbt man auch nach der Weigert'schen Vorschrift der Färbung der elastischen Fasern. Die isolirten Häute zerzupft man am besten. Die Befunde sind an der Hand von entsprechenden Schnittpräparaten zu kontroliren.

Leider kenne ich noch kein Verfahren, das die Adventitia genügend klar zur Darstellung bringt. Dasselbe gilt von dem nervösen Apparate der Gefässe. Auch kenne ich kein Verfahren, welches die Zellkörper der Endothelzellen der Intima und der Muskelzellen sichtbar macht.

Sind die Gefässe erkrankt, so empfiehlt es sich, das in Alkohol oder Formol vorbehandelte Gewebe auch noch nach anderen Färbemethoden zu tingiren. Am Platze sind alle Kernfärbungsmethoden.

Sind Erweichungsherde, Blutungen, Abscesse, Granulationsgeschwülste, Tumoren, eitrige Meningitis und andere schwere Veränderungen der Häute u. s. w. vorhanden, so verfahre man nach folgender Regel:

Ist der Herd so klein, dass man denselben nur mit einem Vorbehandlungsmittel behandeln kann, so fixire man denselben in 96% Alkohol.

Ist derselbe derart beschaffen, dass man ihn halbiren kann, so behandle man die eine Hälfte mit 96% Alkohol, die andere mit Formol, untersuche aber erst das Alkoholpräparat, bevor man sich zur Bearbeitung des Formolstückes entschliesst.

Ist der Herd gross genug, um denselben in vier Qnadranten oder mehr Theile zerlegen zu können, so wird jedenfalls ein Theil in 96% Alkohol, ein zweiter in 10% Formol, ein dritter in 3% Kaliumbichromatlösung überführt. Dabei sind die Schnitte mit einem scharfen Rasirmesser so zu führen, dass jeder Theil vom Ceutrnm des Herdes bis in's gesunde Gewebe reicht.

Sind die Häute erkrankt nnd ist die Erkrankung herdförmig, der Herd aber sehr klein, so schneide man den Herd mit anstossendem Nervengewebe aus und fixire das ausgeschnittene kleine Stück in Formol und stelle von dem an das ausgeschnittene Stück unmittelbar angrenzenden Gewebe Aequivalentpräparate her.

Bei der Vorbehandlung von herdförmig erkranktem Gewebe kommt es immer darauf an, nach Möglichkeit Durchschnitte durch den ganzen Herd, resp. Durchschnitte durch den ganzen Radius des Herdes zu gewinnen.

Für die Untersuchung der Hirnhäute kommt man in der Regel mit Alkohol- und Formolvorbehandlung aus. Es empfiehlt sich die Färbung der Hirnhäute nach meiner Methode, ferner nach der Methode der Färbung der elastischen Fasern, sowie nach der M. Heidenhain'schen Eisenmethode; eventuell sind auch noch Methoden zur Darstellung der Lymphocyten- und Leukocytengranula, sowie Kernfärbungsverfahren am Platze. Will man die Dura mater in Verbindung mit der Pia und dem anstossenden Nervengewebe verarbeiten, so kommt man nur mit ganz hartem Paraffin zum Ziele.

Für die Untersuchung der Abscesszellen, der Granula der Lympho- und Leukocyten kann auch die Alkoholvorbehandlung verwendet werden; zweckentspre-

chender jedoch ist in diesem Falle die Untersuchung dieser Gebilde in mit Formol vorbehandeltem und in Celloidin eingebettetem Material. Zur Darstellung der Granula werden die allgemein üblichen Verfahren der mikroskopischen Technik benützt.

Um das Fett der Fettkörnchenzellen und der Adventitialzellen sichtbar zu machen, genügt die Vorbehandlung des Gewebes in Kaliumbichromatlösung. Das Gewebe wird sodann nach den Regeln der Marchi'schen Methode weiterbehandelt und uneingebettet, nur im Nothfalle auch in Celloidin eingebettet, geschnitten. Sudan III-Färbung nur für in Glycerin montirte Gefrierschnitte.

Zum Nachweis von Kolloid, Hyalin in den Gefässen, sowie von Eisen und Kalk in den Gefässen und Nervenzellen, von Fibrin in den Gefässen oder in Herden u. s. w. empfiehlt sich die Alkohol- oder Formolvorbehandlung. Die Gewebsblöcke bettet man zweckmässig ein; jedoch kann man auch die uneingebetteten Schnitte verwerthen; die Stoffe werden nach den allgemein üblichen Verfahren der mikroskopischen Technik sichtbar gemacht.

Zur Darstellung einer eigenartigen Inkrustationssubstanz abgestorbener Nervenzellen ist das Herstellungsverfahren des Aequivalentpräparates die beste Methode. In letzterem Präparat nehmen verkalkte Nervenzellen überhaupt keine Farbe an, während sich die Inkrustationssubstanz dunkelschwarzblau mit Methylenblau färbt.

Die Pigmente der Nervenzellen und der Gliazellen treten nur theilweise im Aequivalentpräparate zutage. Um das dunkle körnige Pigment von dem hellgelben, drusenartig angeordneten Pigmente der Nervenzellen zu unterscheiden, sowie um die Pigmente der Gliazellen deutlich sichtbar zu machen, sind die Weigert'sche Mitosenfärbung sowie die M. Heidenhain'sche Eisenalaunmethode die besten Verfahren. Theilweise werden dadurch auch die Pigmente und andere (mit den Pigmenten verwandte?) Stoffe der Adventitia gefärbt.

Zur Färbung von Bakterien wird das Gewebe am besten in 96%igem Alkohol vorbehandelt.

Im Aequivalentpräparat werden nicht dargestellt die Nervenfasern und das nervöse Grau, ferner die Neurofibrillen und die Golginetze.

Von den bisher angegebenen Methoden, welche die Neurofibrillen der Nervenzellen sichtbar machen, ist leider noch keine — auch nicht die Bethe'sche Methode — zur histopathologischen Untersuchung geeignet. Das Gleiche gilt von der Darstellung der Golginetze, welche allerdings unter pathologischen Umständen im Aequivalentpräparat und in ungenügender Weise bei vielen diffusen Färbungen zutage treten.

Vom nervösen Grau wissen wir gar nichts. Veränderungen des Aussehens des nervösen Graues stellt man am besten in Präparaten fest, welche diffus gefärbt und deren normales Aussehen man genau kennt, z. B. in Chromsalzkarminpräparaten. Den Ausfall des nervösen Graues konstatirt man in Aequivalentpräparaten an dem Zusammenrücken der Nervenzellen und an weitgehenden Wucherungen von nicht-nervösen Zellen und Gliafasern.

Was nun die Nervenfasern betrifft, so ist die Hauptmethode für die histopathologische Untersuchung die Weigert'sche Markscheidenmethode. Wo immer es angängig ist, benütze man zum Studium der histopathologischen Veränderungen nicht vorher mit Formol vorbehandeltes, sondern direkt in Kaliumbichromatlösung ($2^1/_2$—$3^1/_2$%) vorbehandeltes Gewebe; sehr gute Dienste thun oft Marchi'sche Präparate (s. oben). Sehr zweckmässig ist es, das Augenmerk bei histopathologischen Untersuchungen auch auf die Achsencylinder zu richten. Leider können wir hier nur ganz grobe Veränderungen feststellen. Zu diesem Zwecke genügt jedoch meist die van Gieson'sche Methode. Ein Verfahren, um die Neurofibrillen der Achsencylinder der Nervenfasern sichtbar zu machen, existirt leider noch nicht.

Handelt es sich bei histopathologischen Untersuchungen darum, genauestens den Ausfall von Markfasern zu konstatiren, so thut man gut, die Befunde des Weigert-schen Präparates zu kontroliren.

Die Exner'sche Methode ist ein Verfahren, das auf einer direkten Färbung der Markscheiden beruht und bis jetzt am zuverlässigsten die Markfasern darstellt. Die Methode hat aber gegenüber der Weigert'schen Markscheidenfärbung so zahlreiche Schattenseiten, dass sie zweckmässig nur dann benützt wird, wenn es sich in einem Falle darum handelt, volle Gewissheit über das Ergebniss der Weigert'schen Methode zu erhalten. Das möglichst frische Material wird in kleinen, höchstens 8×6×2 Mm. Fixirblöcken in reichliche Mengen (mindestens das 30fache des Volumens des Blockes) von 1% Osmiumlösung gebracht, welche nach zwei Tagen erneuert wird; am 5. Tage werden die Fixirblöcke mehrere Tage, womöglich in fliessendem Wasser, ausgewaschen, sodann mit Siegellack auf Kork geklebt (s. oben) und mit Wasser befeuchteter Klinge geschnitten (s. oben). Die Schnitte (10—15 μ) werden in einer Schale mit Wasser aufgefangen und kommen sodann auf den Objektträger, wo sie mit Glycerin bedeckt werden. Endlich wird dem Glycerin ein Tropfen einer Ammoniaklösung (25 Tropfen Liquor Ammonii caustici auf 25 Ccm. Aqua dest.) beigefügt und der Schnitt mit einem Deckglas bedeckt.

Wie bereits oben betont wurde, ist es bei histopathologischen Untersuchungen vor allem nothwendig, zu wissen, was man untersuchen will, denn

nur dann vermag man das Gewebe in der nach dem heutigen Stande der mikroskopischen Technik möglichst besten Weise zu analysiren.

Bei der Lösung specieller Aufgaben wird man das Gewebe nach den erörterten Gesichtspunkten vorbehandeln und färben. Die hier gemachten Angaben sollen aber niemanden verhindern, auch noch andere Methoden als die hier aufgeführten zu benützen. Die hier genannten Verfahren sind unentbehrlich, wenn man nach den modernen Grundsätzen histopathologisch untersucht. Deswegen können natürlich andere Methoden auch von grossem Nutzen sein. Ueberhaupt steht fest, dass man einen um so besseren Einblick in die krankhaft veränderten Gewebe erhält, von je mehr Seiten man eine histopathologische Aufgabe in Angriff nimmt.

Etwas anderes als die Lösung specieller Aufgaben ist die histopathologische Analyse. Bei dieser handelt es sich um eine möglichst vollständige Untersuchung des erkrankten Gewebes, z. B. des Rückenmarkes bei der Tabes, bei der Wirbelkaries, bei der Myelitis, bei der Kinderlähmung u. s. w. oder der Medulla oblongata bei der Bulbärparalyse u. s. w. oder des Mittelhirns bei der Ophthalmoplegie u. s. w. oder der Hirnrinde bei Geisteskrankheiten oder des gesammten Nervensystems bei Typhus, bei Paralyse u. s. w. Man muss sich darüber klar sein, dass man hier nur dann zum Ziele gelangt, wenn man das Gewebe mit verschiedenen Vorbehandlungsmitteln behandelt. Je mehr Stellen man vom Rückenmark oder von der Hirnrinde u. s. w. untersucht, umso vollständiger wird das Ergebniss der histopathologischen Analyse ausfallen. Selbstverständlich darf man diese Angabe nicht dahin auffassen, dass man bei der Untersuchung des Rückenmarks oder der Hirnrinde einen Gewebsblock aus dem Lendenmark, resp. aus der vorderen Centralwindung in Alkohol einen zweiten Gewebsblock aus dem Halsmark, resp. der Rinde der Fissura calcarina in Kaliumbichromatlösung u. s. w. vorbehandelt; sondern wenn es heisst, man soll möglichst viele Stellen der Hirnrinde oder des Rückenmarks untersuchen, so ist damit gesagt, dass man z. B. aus dem Lendenmark, resp. aus der vorderen Centralwindung dicht neben einander gelegene Gewebsblöcke ausschneidet und die von diesen einzelnen dicht neben einander stehenden Gewebsstücken das eine in Alkohol, das andere in Formol, das dritte in Kaliumbichromatlösung u. s. w. vorbehandelt, und dass man genau so mit einer Gewebsstelle aus dem Halsmark, Brustmark u. s. w., resp. aus der Rinde des oberen Scheitelläppchens, der Fissura calcarina u. s. w. verfährt.

Nach den heutigen Anschauungen kann also die histopathologische Analyse nur dann eine vollständige werden, wenn man möglichst viele Stellen des erkrankten Nervensystems oder eines erkrankten Organtheiles desselben untersucht und von jeder Stelle Gewebsblöcke mit 96%igem Alkohol, ferner Gewebsblöcke mit 2½—3½%iger Kaliumbichromatlösung, sowie Gewebsblöcke mit 10%iger Formollösung und unter Umständen auch Gewebsblöcke mit der Neurogliabeize zur Gliafaserfärbung Weigert's, oder mit Flemming'scher oder Hermann'scher Flüssigkeit vorbehandelt.

Nissl, Heidelberg.

Nessler'sches Reagens wird dargestellt durch Eintragen von 3,2 Grm. rothen Quecksilberjodids in eine Lösung von 2 Grm. Jodkali in 5 Ccm. Wasser. Man fügt dann noch 20 Ccm. Wasser und 30 Ccm. Kalilauge zu, welche aus 13,4 Grm. Kali caust. fus. und 26,6 Grm. Wasser besteht. Die Flüssigkeit lässt man absetzen und filtrirt durch Asbest.

Das Nessler'sche Reagens dient zum Nachweis von Ammoniak (Gelbfärbung durch Bildung von Oxydimercuriammoniumjodid).

Netzhaut siehe Sehorgan.

Netzknorpel siehe Knorpel.

Neucoccin, Syn. Cochenilleroth A, Croceïnscharlach 4B, Brillantponceau 4R, Scharlach, ein Azofarbstoff, der durch Kombination von Naphtionsäure mit β-Naphtol-γ-disulfosäure entsteht (Berlin, Höchst). Rothes, in Wasser und Schwefelsäure mit rother Farbe leicht lösliches Pulver. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge braun.

Neufuchsin, Syn. Isorubin, Triphenylmethanfarbstoff, der dem Fuchsin nahe verwandt ist (Höchst). In seinen Eigenschaften ist es dem Fuchsin sehr ähnlich, aber leichter löslich.

Neugrün, Syn. für Malachitgrün (Elberfeld). Das Neugrün der Höchster Farbwerke ist ein Diphenylnaphtylfarbstoff, der dem Viktoriablau nahe steht.

Neurogliafärbung. Die Neuroglia ist 1846 von Virchow entdeckt worden, und von ihm wurde auch im Jahre 1853 der Name Neuroglia zuerst gebraucht. In vielen Publikationen heisst es zwar, dass bereits Keuffel 1810 die specifische Zwischensubstanz des Centralnervensystems beschrieben hätte, aber was er als eine Art »Neurilemm«. im Rückenmark geschildert hat, ist nichts weiter gewesen als das System der Septa mit ihren Blutgefässen, wie ich bei anderer Gelegenheit gezeigt habe. Die von Virchow benutzten Methoden mussten naturgemäss sehr einfache sein. In der damaligen Zeit verfügte man ja noch nicht einmal über geeignete Härtungsflüssigkeiten für das centrale Nervensystem, von Färbungen nun gar war damals überhaupt noch keine Rede. Es ist daher um so erstaunenswerther, dass Virchow die Neuroglia nicht nur überhaupt entdeckt, sondern dass er auch vielerlei richtige Beobachtungen über ihre Topographie gemacht hat. Alles konnte er freilich nicht korrekt erkennen, dafür war eben die von ihm benutzte Untersuchungsmethode doch gar zu unvollkommen.

Einen wesentlichen Fortschritt in dem uns interessirenden Gebiete stellte schon die Chromirung der Präparate des Centralnervensystems in Verbindung mit der Karminfärbung dar. Was man mit dieser zu leisten vermochte, haben vor allem Clarke und Frommann gezeigt. Freilich wird ja durch das Karmin so vieles von Nervenmaterial mitgefärbt, dass diese Methode überall da fehlschlagen musste, wo nicht gröbere Markscheiden die Uebersicht erleichterten. Sie versagte also namentlich in den grauen Substanzen. Für die weisse Substanz (freilich nur des Rückenmarks) hingegen haben die genannten Forscher bereits alle Hauptsachen richtig gesehen und gedeutet.

Weiterhin hat die Einführung der Osmiumsäure in die mikroskopische Technik durch Max Schultze auch für die Neuroglia neue Wege eröffnet, die mit grossem Erfolge besonders von Deiters und Ranvier beschritten wurden.

Eine ganz neue Epoche schien durch die berühmte Golgi'sche Methode auch für das Zwischengewebe des Centralnervensystems einzutreten, geradeso wie diese Methode eine neue Aera für die eigentlich nervösen Elemente desselben in der That herbeigeführt hat. Doch sind die Erfolge dieser Methode gerade in Bezug auf die Neuroglia entschieden überschätzt worden. Ich habe im Jahre 1895 (Beiträge zur Kenntniss der normalen menschlichen Neuroglia, Frankfurt a. M. 1895) mich bereits in diesem Sinne ausgesprochen. Ich sagte damals: »Von wirklichen Erfolgen hat die Golgische Methode nur solche auf dem Gebiete der Entwicklungsgeschichte aufzuweisen. Für die Lehre von der Anordnung der Neuroglia im ausgebildeten Körper hingegen sind die Resultate äusserst dürftige, ja vielfach geradezu

falsche gewesen, und die weitgehende Ueberschätzung dieser Resultate ist nur dadurch zu erklären, dass man sich der Grenzen, welche diese wie jede Methode hat, nicht bewusst war . . . .«

»Die Gründe dafür, warum mit der Golgi'schen Methode für die wichtigste Frage, die Topographie der Neuroglia, nur dürftige Resultate zu erlangen waren, liegen auf der Hand. Vor allem konnte sie der Hauptforderung, die man für die Lehre von einer Stützsubstanz stellen muss, nicht entsprechen, sie konnte das Gerüst nicht im Zusammenhange, d. h. vollständig darstellen. Dieser für die Ergründung einer Stützsubstanz fundamentale Fehler kommt bei den nervösen Elementen, bei denen es wesentlich auf die Beziehung der einzelnen Elemente zu einander ankommt, nicht nur nicht in Betracht, sondern er hört hier auf, ein Fehler zu sein und wird ein Vortheil, da man bei einer vollständigen Darstellung des Nervengewebes sich gar nicht mehr in dem Gewirr desselben auskennen würde. Bei einer Stützsubstanz aber muss man eine wenigstens stellenweise Vollständigkeit der Elemente durch eine brauchbare Methode erreichen können. Das kann aber die Golgi'sche Methode nicht leisten. Abgesehen davon, dass sie immer nur unvollkommen, hier und da einen Bestandtheil der Neuroglia imprägnirt, sind diese imprägnirten Bestandtheile nur die Zellen und die unmittelbar von ihnen ausstrahlenden Fasern (»Fortsätze der Zellen«). Alle von den Zellen abgetrennten Fasern sind gar nicht mehr als Neurogliafasern zu diagnosticiren.«

»An einem einigermassen vollständig gefärbten Präparate kann man sich aber davon überzeugen, dass dadurch die Mehrzahl der Neurogliafasern sich der Kenntniss entzieht, selbst wenn man die grosse Dicke, welche nach Golgi imprägnirte Schnitte haben dürfen, in Betracht zieht.«

»Die Golgi'sche Methode hat aber noch einen anderen Nachtheil für die Forschung gehabt. Sie stellt, wie erwähnt, nur die Zellen und die ihnen anliegenden Fasern dar. Ganz abgesehen nun davon, dass bei der entstehenden Silhouette die chemisch-physikalischen Unterschiede der Fasern von den Zellen verschwinden und so Trugbilder von Zellen mit »Fortsätzen« entstehen, so wurde durch die Einseitigkeit der Methode die Aufmerksamkeit ganz von den Fasern (»Zellfortsätzen«) abgelenkt und auf die »Zellen« koncentrirt. Es hat nun sicherlich auch ein Interesse, die Formen der (Schein-) Zellen der Neuroglia nach der Golgi'schen Methode zu studiren, aber für die Funktion wesentlicher sind doch auch hier, wie beim Knochen, bei den elastischen und Bindegewebsmassen, die gerüstbildenden Elemente, die Neurogliafasern (Zellfortsätze nach den meisten Autoren), ihre Massenhaftigkeit, ihr Verlauf und die Form ihrer Verflechtungen, und für diese hatte man unter Anwendung der Golgi'schen Methode kaum noch ein Interesse oder höchstens ein Interesse, das sich ganz gleichgiltigen Fragen fast allein zuwandte und die eigentlich wichtige Topographie, wenn auch nicht vollkommen ignorirte, so doch sehr vernachlässigte.«

Es war nun durchaus wünschenswerth, ein Verfahren zu finden, das die Neurogliaelemente elektiv, scharf und möglichst vollständig aus dem Gewirr der nervösen Bestandtheile hervorhob. Ganz besonders wichtig war eine solche Methode für die pathologische Forschung. Wir verdanken ja so wie so schon viele der grundlegenden Thatsachen in der Pathologie des Centralnervensystems gerade deshalb der Karmin- und der ihr verwandten Methodik, weil hierbei auch die Neuroglia gefärbt erhalten wurde. Durch diesen Umstand war man in den Stand gesetzt, diejenigen Stellen zu erkennen, an welchen die nervösen Elemente zugrunde gegangen waren, denn an diesen trat eine reparative Wucherung der Neuroglia ein, die eben durch die Rothfärbung hervorgehoben wurde. Aber die Leistungsfähigkeit der Karminmethoden hatte ihre engen Grenzen, und so war es denn ein Fort-

schritt, als durch die Markscheidenfärbung im centralen Nervensystem der Nachweis degenerirter Stellen erleichtert wurde. Bei der Anwendung dieser Methode trat gerade der Defekt im Nervengewebe zutage, die degenerirten Partien zeichneten sich wegen des Fehlens markhaltiger Nervenfasern durch eine helle, nicht wie bei der Karmintinktion durch eine dunklere Farbe vor den gesunden aus. Der Farbengegensatz war aber, trotzdem es sich ja bei der Markscheidendegeneration um den Nachweis von etwas Negativem handelte, doch ein so scharfer, dass man die erkrankten Stellen viel besser wahrnehmen konnte als bei den positiven Karminbildern.

Gesteigerten Anforderungen für pathologische Zwecke vermochte aber auch die Markscheidenfärbung nicht zu genügen, selbst wenn wir dabei von intimeren Zellveränderungen ganz absehen, die wir erst durch die Nissl'sche Methode kennen gelernt haben. Die Defekte von markhaltigen Nervenfasern, die man durch die Markscheidenmethode erkennt, sind immer schon gröbere. Ausfälle vereinzelter Fasern, selbst wenn diese nicht gar zu spärlich sind, entziehen sich der Kenntnissnahme*; Defekte in den Ausläufern der Nervenzellen, auf die die Neuroglia ja auch durch Wucherung reagirt, sind durch die Tinktion der Markscheiden gar nicht nachzuweisen. Wenn man Parallelpräparate aus denselben Stücken mit Markscheidenfärbung und mit einer guten Neurogliafärbung macht, so kann man sich sehr oft davon überzeugen, dass man an den letzteren Schnitten Veränderungen mit Leichtigkeit wahrnehmen kann, von denen man an den ersteren entweder gar nichts sieht oder doch erst dann etwas, wenn man durch die Neurogliapräparate darauf aufmerksam geworden ist. An manchen Stellen ist es schon a priori ganz undenkbar, dass man durch die Markscheidenmethoden degenerative Processe nachweisen kann (auch mit anderen Methoden nicht), nämlich dann, wenn an der betreffenden Partie des Centralnervensystems so gut wie gar keine markhaltigen Nervenfasern (und auch keine grösseren Ganglienzellenkörper) normalerweise vorhanden sind. Das gilt z. B. für die jenseits der Purkinje'schen Zellkörper liegende Schicht der Molekularschicht des kleinen Gehirns. Hier kann man, z. B. bei Tabes, bei senilen Veränderungen, bei progressiver Paralyse oder bei multipler Sklerose oft genug hochgradige Degenerationen durch die starke Wucherung der Neurogliafasern erkennen, von denen man bei Anwendung keiner anderen Methode das Geringste wahrzunehmen vermag.

Unter diesen Verhältnissen ist es wohl gerade einem pathologischen Anatomen nicht zu verdenken, wenn er auf die Auffindung einer geeigneten Methode zum scharfen Nachweis der Neurogliafasern viel Mühe verwendet hat. So quäle ich mich denn in der That seit mehr als dreizehn Jahren damit ab, eine Methode zur Färbung der Neurogliafasern herauszubekommen, die allen billigen Anforderungen auch wirklich entspricht. Welches diese Anforderungen sind, darüber habe ich mich a. a. O. bereits ausführlich ausgelassen (pag. 128 ff.). Hier möchte ich nur bemerken, dass die Färbung zunächst eine elektive sein muss, in dem Sinne, dass entweder die nervösen Bestandtheile des Centralnervensystems überhaupt nicht gefärbt sind oder doch so, dass man sie von den Stützsubstanzen leicht unterscheiden kann. Diese Forderung erfüllt die von mir damals beschriebene Methode ja durchaus. Auch anderen Anforderungen ist ja Genüge geleistet, wenn man davon absieht, dass die Haltbarkeit auch der nach neueren Principien hergestellten Präparate noch nicht genügend festgestellt ist. Ich bin jetzt auch

* In einem frühen Stadium der Degeneration greift da die mit Recht so berühmt gewordene Marchi'sche Methode aushelfend ein. Sie zeigt die feinsten Degenerationsherde im positiven Bilde. Bei lange bestehenden Degenerationen aber versagt sie naturgemäss, weil dann die zerfallenen Markscheidenbestandtheile, die die Methode nachweist, verschwunden sind.

imstande, aus demselben Block Präparate auf Markscheiden und andere auf Neuroglia zu tingiren, aber die Hauptsache ist heute ebensowenig bei meiner Methode erreicht wie vor fast sieben Jahren. Ich sagte ja damals gegen den Schluss der Bemerkungen über die Methode: »Den Abschluss der neuen Methode, den ich jetzt erreicht habe, kann ich nur als einen vorläufigen ansehen. Wenn man die Unbequemlichkeit bei der Härtung mit in den Kauf nimmt, so sind zwar die von uns aufgestellten Forderungen theils vollständig, theils so erfüllt, dass die Methode wenigstens brauchbar ist. Aber einer sehr wichtigen Forderung, der der Sicherheit, ist im idealen Sinne noch nicht Genüge geleistet. Ehe aber die Methode nicht eine geradezu mathematische Sicherheit besitzt, ist sie nicht als vollendet zu bezeichnen.« Ich bemerke ausdrücklich, dass die hier durch gesperrten Druck hervorgehobenen Stellen auch im Original hervorgehoben sind. Nach alledem ist es mir nicht recht verständlich, wie Benda sagen kann, »dass die Weigert'sche Methode doch nicht die Sicherheit der Handhabung bietet, die vom Entdecker selbst gefordert und ihr zugeschrieben wurde«[1]). Den entgegengesetzten Vorwurf wie Benda hatte mir ein Freund bald nach dem Erscheinen der genannten Schrift gemacht, indem er sagte, ich hätte so oft die Unsicherheit der Methode hervorgehoben, dass ich dadurch die Leute von der Benutzung derselben zurückschreckte!!

Es war nun mein unausgesetztes Bestreben in den seitdem weiter verflossenen 7 Jahren, diese »mathematische« Sicherheit der Methode zustande zu bringen. Dieses Ziel habe ich immer noch nicht erreicht. Besser ist es ja schon geworden, aber gut noch nicht. Unter diesen Verhältnissen muss ich an dieser Stelle darauf verzichten, über meine Versuche zu berichten, und ich werde mich damit begnügen müssen, in der Hauptsache meine alte, von mir selbst in dieser Form nicht mehr angewandte Methode hier zu schildern. Ob andere glücklicher gewesen sind, kann ich nicht beurtheilen. Ich habe wohl hier und da ein nach Modifikationen meiner Methode oder nach anderen Principien gefärbtes Präparat gesehen, von denen aber kein einziges die Vollständigkeit der Färbung aufwies, die ich selbst schon erreicht hatte. Ich möchte freilich auf diese wenigen Erfahrungen hin kein absprechendes Urtheil über gewisse Methoden abgeben. Umgekehrt hätte ich aus einem oder dem anderen doch etwa gut gelungenen Präparate, wenn ich ein solches gezeigt bekommen hätte, ja über die Sicherheit der Methode, nach der es gefärbt war, auch nichts aussagen können. Eine Methode kann z. B. das (am leichtesten zu färbende) menschliche Rückenmark mit ganz schön dargestellter Neuroglia zeigen, aber am Gehirn, am Pons oder den Vierhügeln doch versagen.

* * *

1. Was die zur Untersuchung auf Neuroglia geeigneten Objekte anbelangt, so habe ich in der erwähnten Abhandlung darauf hingewiesen, dass nur ganz frisches Material als passend zu bezeichnen ist. Diese Angabe von mir ist wohl allseitig bestätigt worden. Freilich lässt sich das, was als »ganz frisches« Material anzusehen ist, nicht zahlenmässig feststellen. Bei kaltem Wetter dauert es viel länger, bis das Centralnervensystem für meine Neurogliafärbung (und wohl auch für andere) unbrauchbar wird, als bei warmem. Auch die Todesursache ist nicht gleichgiltig. Ganz besonders gut gelingt die Färbung an Gehirnen von Diabetikern, ganz besonders schlecht an sehr feuchten Hirnen, z. B. bei Meningitis tuberculosa. Als ungefähre Regel kann angegeben werden, dass ein Rückenmark, das beim frischen Durchschneiden über die Schnittfläche hervorquillt, für die Neurogliafärbung bereits ungeeignet ist, auch wenn sich noch hier und da einige Fasern tin-

giren sollten. Ebenso ist ein Gehirn meist unbrauchbar, wenn die mittlere Kommissur macerirt ist.

Eine Zeit lang vermuthete ich, dass der negative Ausfall meiner Färbung an Gehirnen kleinerer Thiere umgekehrt auf einer zu frischen Beschaffenheit derselben beruhe. Das hat sich aber nicht bestätigt.

2. Auch wenn das Material ganz frisch eingelegt wurde, so kann es doch durch die für die Vorbereitung zum Schneiden ja unvermeidliche Härtung noch dadurch verdorben werden, dass die hierzu benutzte Flüssigkeit nicht rasch genug in die Stücke eindringt. In einem solchen Falle gelingt die Färbung nur in den äussersten Schichten, während sie im Innern des Stückes ausbleibt. Auch diese Beobachtung von mir ist allseitig bestätigt worden. Um diesen Missstand zu vermeiden, habe ich vorgeschlagen und alle sind mir darin gefolgt, nur möglichst dünne Stücke einzulegen, also nicht über einen halben Centimeter dicke. Für das Gehirn muss noch darauf aufmerksam gemacht werden, dass man auch nicht zu breite Stücke in die fixirenden Flüssigkeiten thun darf.

Auch die Art der Härtungsflüssigkeit ist nicht gleichgiltig für die gute Konservirung des Materials. Der Alkohol hat sich mir persönlich nicht bewährt, obgleich andere Forscher, wie Beneke, gute Resultate damit bekommen zu haben angeben. Ebensowenig die dünnen Lösungen von Kaliumbichromat, z. B. die klassische Müller'sche Flüssigkeit. Besser ging es ja mit den koncentrirteren Lösungen des doppeltchromsauren Kaliums etc., oder mit der von mir angegebenen Bichromatchromalaun-, resp. Bichromatfluorchrommischung. Ich habe jedoch dem Formol in 10%iger Lösung den Vorzug gegeben, weil gerade diese Flüssigkeit besonders schnell in die Tiefe der Präparate eindringt. Von stärkeren Lösungen habe ich selbst keinen Vortheil gesehen, obgleich es ja sehr nahe lag, diese zu versuchen. Andere Autoren geben aber an, mit Lösungen von 25% bessere Resultate erzielt zu haben als mit der 10%igen, z. B. Benda. Jedenfalls haben sich die meisten Autoren meiner Empfehlung des Formols als primären Härtungsmittels angeschlossen, sei es, dass sie es zunächst allein in Anwendung bringen, oder nach meiner Eventualempfehlung einer der sogleich zu besprechenden Beizen zusetzen.

3. Die dritte Procedur, die bei meiner Neurogliafärbung in Anwendung kam, war die eben erwähnte Beizung. Wenn es sich blos um die Frage handelte, Neurogliafasern überhaupt zu färben, so bedürfte es freilich keiner Beizung. Ich habe ja natürlich mit der einfachen »Fibrinfärbung« auch Versuche genug gemacht, und ich habe dabei gefunden, dass sich in der That bei dieser hier und da die Neurogliafasern färben lassen, aber das ist ja nicht der Zweck einer richtigen Neurogliafärbung. Diese soll das Gerüstwerk möglichst vollständig zur Darstellung bringen, und das gelingt ohne irgend eine Beizung, oder wie man es sonst nennen will, nicht mit irgend einer halbwegs genügenden Sicherheit. Auch Beneke, der noch am glücklichsten in der Anwendung der einfachen (kaum nennenswerth modificirten)* Fibrinfärbung gewesen ist, giebt an, dass es, um gute Resultate zu erhalten, auf die genaueste Innehaltung der Auswaschezeit ankäme. »Eine Sekunde zu spät, und die gewünschte Färbung kann bereits hochgradig abgeblasst sein,« sagt er.[2]) Auf eine so schmale Brücke kann man sich aber nicht wagen, wenn man irgend welche Sicherheit bei einer Methode beansprucht. Man wird also wohl bei der Beizung bleiben müssen.

Diese Beizen, wenn wir sie weiter so nennen wollen, können gleichzeitig als primäre Härtungsmittel dienen, wie ich das schon in meiner

* Eigentlich ist nur das Verhältniss von Anilinöl zu Xylol verändert. Ich hatte für die Fibrinfärbung 2 Theile Anilin und 1 Theil Xylol empfohlen, Beneke nimmt 2 Anilin auf 3 Xylol.

Abhandlung angegeben habe, sei es, dass man sie ohne weitere Zusätze benutzt, sei es mit Formolzusatz. So kann man, wie ich angab, die schon oben erwähnten stärkeren Lösungen von Chromaten verwenden. Ich selbst habe a. a. O. gesagt, dass ich von diesen zurückgekommen wäre, weil ich so leicht Axencylinderfärbungen mitbekommen hätte. Andere haben aber doch wieder auf diese Lösungen von Bichromat oder gar von Chromsäure zurückgegriffen, ohne auf jene Misshelligkeit zu stossen, und ich habe mich selbst davon überzeugt, dass man diese durch geeignete Massnahmen vermeiden kann. So haben manche Forscher das zuerst von DURIG[3]) publicirte, dann von ORTH unabhängig davon empfohlene Gemisch von Kaliumbichromat und Formol, andere haben ZENKER'sche Flüssigkeit etc. benutzt.* Ich selbst habe in meinem Buche als eventuelle primäre Härtung und Beizung die Mischung von essigsaurem Kupferoxyd (5%), Chromalaun ($2\frac{1}{2}$%) und Essigsäure (5%) in Verbindung mit Formol (10%) ebenfalls als empfehlenswerth bezeichnet. Die Herstellung dieser Mischung musste insofern besonders sorgfältig geschehen, als die Chromalaunlösung ordentlich gekocht werden musste, damit aus dem ursprünglich violetten Chromsalze die grüne Modifikation entstünde. Die violette gab nämlich mit dem nachträglich zugesetzten neutralen essigsauren Kupferoxyd Niederschläge, die bei Verwendung der grünen Modifikation nicht eintraten. Bequemer als das Chromalaun ist das von mir eingeführte Fluorchrom anzuwenden, wie ich schon im 6. Bande der MERKEL-BONNET'schen »Ergebnisse« (pag. 14 f.) angegeben habe. Dieses Salz ist nämlich von Hause aus grün und so ist denn die Darstellung der »Beize« bequemer.

Andererseits habe ich angegeben, dass man auch die früher bereits erwähnte Härtung in reinem Formol der eigentlichen Beizung vorausschicken könne. Auch dies ist von Vielen befolgt worden. Man hat meiner Angabe entsprechend zunächst eine Formolhärtung vorgenommen und dann erst die Beizungen in Anwendung gezogen. Ich selbst habe bereits angegeben, dass man die soeben erwähnte Mischung, die gegenwärtig von den Autoren vielfach als »Neurogliabeize« κατ' ἐξοχήν bezeichnet wird, auch nach der Formolhärtung anwenden könne.

Andere Autoren haben der Formolhärtung andere Beizen folgen lassen. So verfährt MALLORY in der Weise, dass er die formolgehärteten und 4 bis 8 Tage (im Brütofen) mit Pikrinsäure behandelten Stücke noch weitere 4—8 Tage (ebenfalls im Brütofen) mit einer 5%igen Lösung von Ammoniumbichromat behandelt. BENDA ferner giebt an, dass man die in Formol fixirten Stücke noch mit Chromsäure beizen solle etc.

Endlich haben es manche Forscher vorgezogen, die Beize erst auf die schon fertigen Schnitte einwirken zu lassen, u. a. STORCH.[4]) In gewisser Beziehung findet auch bei unserem Verfahren eine solche Schnittbeizung noch nachträglich statt, indem das weiter unten zu erwähnende übermangansaure Kalium auf den Schnitten zunächst ja einen beträchtlichen Metallsalzkörper zurücklässt.

4. Die Einbettung der Präparate kann kaum entbehrt werden, da die Schnitte wenigstens für die von mir angegebene Färbungsmethode nicht zu dick gerathen dürfen. Ich selbst habe die Celloidineinbettung verwendet, während andere, namentlich BENDA, die Paraffinbehandlung besonders warm empfehlen. BENDA meint, dass unentcelloidinisirte Schnitte sich deshalb nicht für meine (und verwandte) Neurogliafärbung eignen, weil das Celloidin »durch seine Mitfärbung die Kontrolle der Differenzirung erschwert«. In dieser Beziehung aber hat man das Celloidin nicht zu scheuen. Die Kontrolle

---

* ANGLADE verwendet eine Chrom-Osmiummischung, die er als »FOL'sche Lösung« bezeichnet. Ich kenne die Zusammensetzung dieser FOL'schen Lösung nicht.

der Differenzirung ist ja bei unserer Methode nicht von einem Hervortreten irgend welcher Strukturen abhängig, wie das etwa bei der Markscheidenfärbung der Fall ist. Die Differenzirung ist vielmehr immer dann beendet, wenn die Schnitte ganz frei von Trübungen geworden sind, und wenn keine blauen Strömungen (»Schlieren«) mehr abgegeben werden. Für gewöhnlich werden diese beiden Bedingungen fast oder ganz gleichzeitig erfüllt. Die Kontrolle hierfür hat man aber an nicht entcelloidinisirten Schnitten gerade so wie an solchen, aus denen das Celloidin entfernt worden war. Bei meiner ursprünglichen Methode machte die Anwesenheit oder die Abwesenheit des Celloidins auch kaum einen Unterschied für den Erfolg der Färbung, und ich habe denn auch an celloidinhaltigen Schnitten sehr gute Färbungen erhalten, in meinem Buche abgebildet und auch sonst vielfach demonstrirt, so dass ich nicht glauben kann, dass, wie Benda meint, auf die Nichtentfernung des Celloidins für meine alte Methode ein grosses Gewicht zu legen sei. Benda's Färbemethoden gelingen allerdings nur an entcelloidinisirten Präparaten, und auch bei neueren Modifikationen meiner Methode, die ich selbst vorgenommen habe, ist die Auswaschung des Celloidins wünschenswerth, wenigstens dann, wenn man die Stücke lange in sehr dickem Celloidin lässt.

In letzterem Falle wird dann manchmal die Färbung hier und dort ungenügend, und wenn man ganz sicher gehen will, so wird man für diese neuen, noch nicht abgeschlossenen Modifikationen in der That gut thun, das Celloidin zu entfernen. Der Grund für die schädliche Wirkung des Celloidins kann aber, wie gesagt, nicht in dem von Benda angegebenen Momente gesucht werden. Auch die blosse Mitfärbung des Celloidins ist nicht allein Schuld, denn man sieht für den Fall, dass die Neurogliafasern überhaupt eine scharfe Färbung angenommen haben, auf dem stets nur blassblauen Grunde die dunkelblauen Fasern doch sehr gut. Aber es giebt eben Fälle, in denen eine scharfe Färbung der Neuroglia wenigstens stellenweise im celloidinhaltigen Schnitte ausbleibt, und für diese Fälle müssen wir dann annehmen, dass das Celloidin aus irgend einem andern, wohl physikalischen Grunde, die distinkte Färbung der Fasern verhindert. Wir kennen ja ähnliche Verhältnisse auch von andern Färbungen mit basischen Anilinfärbungen her, namentlich von manchen Bakterientinktionen. Selbstverständlich kann man auch die Paraffineinbettung für solche Präparate benutzen, die freilich mit vielen »wenns« und »abers« umgeben ist und eine gute Markscheidenfärbung an Schnitten desselben Blockes nicht ermöglicht.

5. Die aus den so vorbereiteten Präparaten angefertigten Schnitte müssen nun vor der Färbung noch einer Procedur unterzogen werden, die ich als eine »Reduktion« bezeichnet habe. Diese Bezeichnung ist insofern, wie Benda mit Recht hervorhebt, nicht glücklich gewählt gewesen, als ja, wie sich gleich zeigen wird, der erste Theil des Verfahrens sogar einer starken Oxydation entspricht. Ich hatte aber auf den letzten Theil desselben deshalb den Hauptaccent gelegt, weil ich nach früheren Versuchen, bei denen gar keine Oxydation in Frage kam, die Reduktion für das Ausschlaggebende halten musste.

Ueber diese Procedur, die ich also mit einer Parsprototobezeichnung »Reduktion« genannt hatte, sagte ich in meinem Buche pag. 140 folgendes:

»Als bestes Verfahren empfiehlt sich die in der Technik schon lange gebräuchliche, aber erst von Lustgarten in die Histologie eingeführte Reduktion mit Kalium hypermanganicum und schwefliger Säure. Lustgarten hat diese Reduktion im Leipziger pathologischen Institute (selbständig) 1884 zuerst angewendet. Er brachte sie nach Wien und hier ist sie dann von Pal

(ganz wenig verändert) zu einer Modifikation meiner Markscheidenfärbung benutzt worden. Man kann die LUSTGARTEN'sche Methode direkt anwenden. Besser wirkt aber noch eine kleine Modifikation derselben, bei der ein Stoff in Anwendung kommt, der als Kontrastfarbe und als Verstärker Anwendung findet. Dieser Stoff ist das Chromogen etc.«

Das Chromogen ist das saure Natriumsalz der 3—6 Disulfosäure des 1—8 Dioxynaphthalins. Ich empfahl davon 5% in Wasser zu lösen und 5% Ameisensäure von 1,20 specifischem Gewicht zuzusetzen. Man sollte sorgfältig filtriren und dann vor dem Gebrauche 10 Ccm. einer 10%igen Lösung von einfach schwefligsaurem Natrium auf 90 Ccm. zusetzen. Die von mir empfohlene Ameisensäure ist etwa viermal so stark als die officinelle, was von vielen Autoren übersehen worden ist.

Wie aus dem Obigen hervorgeht, hatte ich diesen Zusatz nicht blos wie BENDA sagt (a. a. O.), zu dem Zwecke empfohlen, um eine kontrastirende Grundfärbung zu erzielen, sondern weil dabei mehr Fasern hervortreten und die Färbung derselben eine dunklere wird. Zur Kontrastfärbung hatte ich vielmehr noch eine besondere Nachbehandlung zwar auch mit Chromogen, aber ohne schweflige Säure empfohlen. Wenn daher BENDA, meiner Eventualempfehlung folgend, der einfachen LUSTGARTEN-PAL'schen Reduktion den Vorzug giebt, so ist er damit zu einem Verfahren zurückgekehrt, das ich aus den angeführten Gründen damals verlassen zu müssen geglaubt hatte.

Die Bedeutung dieser Oxydation durch übermangansaures Kalium und die darauf folgende Reduktion habe ich (pag. 134 a. a. O.) in dem Umstande vermuthet, dass dabei eine ganz feine Schicht einer reducirten Metallverbindung zurückbliebe, die in ähnlicher Weise als »Beize« diente, wie für andere basische Anilinfarben sehr feine Niederschläge das Haften des Farbstoffes begünstigten. Ich war der Meinung, dass das betreffende Metall nur dann an den Neurogliafasern hafte, wenn es an sie im hochoxydirten Zustande herangebracht würde (pag. 134 a. a. O.). In dieser Beziehung wäre also gerade die Behandlung mit übermangansaurem Kalium noch ein besonderes Verstärkungsmittel, ja, wie ich später gefunden habe, genügt dieses Metallsalz unter geeigneten Umständen als alleiniger Beizkörper, also ohne Benutzung anderer Metallverbindungen.

Ich habe diese ganze Auffassung in meinem Buche als blosse Hypothese bezeichnet, möchte aber auch jetzt noch insofern an dieser Hypothese festhalten, als ich immer mehr in der Ueberzeugung befestigt worden bin, dass in der That für die Erreichung einer guten Färbung eine Beizung, oder wie man es sonst nennen will, nicht zu entbehren ist. Nur insofern habe ich meine Anschauung geändert, als ich inzwischen andere Beizen gefunden habe, für die der Satz nicht gilt, dass »das betreffende Metall zuerst in hochoxydirtem Zustande an die Neurogliafasern herangebracht werden müsse«. Ob diese schon die bestmöglichsten Resultate liefern, kann ich noch nicht mit Sicherheit sagen.

Wie es auch sein mag, diese Beizen müssen nur als äusserst feine Schicht den Schnitten anhaften, wenn sie wirksam sein sollen, sie müssen sozusagen als »molekularer Hauch« festsitzen.

Der einzige Autor, der sich ausser mir mit der Theorie der uns beschäftigenden Färbung abgegeben hat, BENDA, ist freilich ganz anderer Ansicht wie ich. Nicht nur meint er, dass die Behandlung mit übermangansaurem Kalium und schwefliger Säure nur als Oxydationsmittel* in Betracht käme, sondern er glaubt sogar, dass die ganze Beiztheorie speciell

* Er glaubt sogar, dass man auch andere »einfache Oxydationsverfahren« an Stelle der oben erwähnten Behandlung brauchen könne. Das möchte ich jedenfalls bestreiten.

für meine Neurogliafärbung* eigentlich überflüssig wäre. Er sagt vielmehr: »Der Sinn des Verfahrens liegt ganz allgemein in einer Fortschaffung oder Inaktivirung der bei der Härtung verwendeten Metallsalze, besonders der Chromate, und ich betrachte es als Entchromirungsverfahren.« So einfach kann aber die Sache nicht liegen. Einmal lehrt ja schon die Mangelhaftigkeit der Färbungsresultate bei einfacher Formol- oder Alkoholhärtung (ohne Behandlung mit Metallsalzen), von der wir schon früher gesprochen haben, dass die blosse Abwesenheit der Metallverbindungen in specie der Chromate nicht genügt, um eine gute Tinktion zu ermöglichen. Doch könnte man hierbei immer noch einwenden, dass hier die Tinktion deshalb mangelhaft war, weil die Fasern ohne die Anwesenheit von Metallsalzen bei den »Durchtränkungsmethoden«, die doch nun einmal kaum entbehrt werden können, ihre Färbbarkeit mehr oder weniger einbüssen (Benda, a. a. O.). Ich möchte daher bemerken, dass ich bei meinen ungemein vielen Versuchen doch gefunden habe, dass man die Präparate auch ohne Anwendung von Metallsalzen in gewisser Weise so fixiren kann, dass sie auch nach den Durchtränkungen (mit Alkohol etc.) sehr gute Färbungen geben. Aber gerade in diesen Fällen färbten sich die Schnitte ohne nachträgliche »Beizung« entweder gar nicht, oder doch schlecht, während sie nach Behandlung mit passenden Metallverbindungen eben eine sehr schöne Färbung annahmen. Auch hier war von einer Inaktivirung oder Fortschaffung von Chromaten oder dergleichen nicht die Rede, da die Präparate vorher gar nicht mit solchen in Beziehung getreten waren.

Ferner spricht gegen Benda's Auffassung der von mir schon in meinem Buche (pag. 142) hervorgehobene Umstand, dass Schnitte, die sich (nach vorangegangener »Beizung«) sehr gut färbten, ihre Färbbarkeit mehr oder weniger einbüssten, wenn sie längere Zeit in Wasser oder in reinem 80%igem Alkohol aufbewahrt waren, obgleich hier doch gar keine neuen Metallverbindungen auf sie einwirkten.

Zum Schlusse dieser Betrachtungen über die »reduktive« Behandlung der Schnitte möchte ich aber doch darauf hinweisen, dass unsere Verwendung des Lustgarten-Pal'schen Verfahrens bezüglich einer Modifikation desselben immerhin als ein Novum zu betrachten ist. Bis dahin war jene Methode niemals zur Verstärkung oder zur Ermöglichung einer (später erfolgenden) Färbung benutzt worden, sondern umgekehrt immer nur zur Entfärbung, resp. zur Differenzirung nach eingetretener Ueberfärbung.

6. Die nun endlich folgende eigentliche Färbung der Schnitte beruht durchaus auf den Principien meiner Fibrinmethode. Die Aenderungen, die ich vorschlug, liegen einmal in der Verwendung einer stärker alkoholischen Methylviolettlösung (70—80%iger Alkohol, eventuell noch mit Zusatz von 5 Ccm. einer 5%igen Oxalsäurelösung** auf 100 Ccm. der Farbflüssigkeit), sodann darin, dass ich die Anilinöl-Xylolmischung etwas modificirt habe, indem ich statt des ursprünglich benutzten Verhältnisses von zwei Theilen Anilin auf einen Theil Xylol, nunmehr von beiden Substanzen gleiche Raumtheile verwendete.

Die Färbung mit der alkoholischen Methylviolettlösung nahm ich auf dem Objektträger vor, und ich habe angegeben, dass die Farbflüssigkeit

---

* Die Wirkung von Beizen als Fixirungsmittel für basische Anilinfarben überhaupt leugnet Benda aber in keiner Weise, im Gegentheil, er widmet dieser Beizwirkung sogar ausführliche Bemerkungen. Er hat auch speciell für die von ihm empfohlene besondere Neurogliafärbung die Bedeutung der dabei angewendeten Beize sehr scharf hervorgehoben.

** Benda empfiehlt statt der Oxalsäure Salzsäure und Anilin als Zusätze zur Farbflüssigkeit (1 Volumen in 70%igem Alkohol gesättigter Krystallviolettlösung, 1 Volumen 70%iger Alkohol mit 1% Salzsäure, 2 Volumen Anilinwasser). Ein besonderer Unterschied für das Gelingen der Methode liegt kaum in den Farbstofflösungen, die empfohlen sind. Nur rein wässerige Lösungen sind zu vermeiden.

nur kurze Zeit einzuwirken brauche. Selbstverständlich habe ich oft versucht, durch prolongirte Behandlung der Schnitte mit der Farbe bessere Erfolge zu erzielen, habe aber keinen Vortheil davon gesehen. Andere Autoren haben aber die Tinktionsflüssigkeit mit Nutzen lange einwirken lassen, z. B. KRAUSE[5]). Verwendet man Paraffinschnitte, so muss man nach BENDA die Farblösung sogar in erwärmtem Zustande mit den Schnitten zusammenbringen, wenn man ordentliche Resultate erzielen will.

Die Jodlösung bleibt, wie ich angab (pag. 143 a. a. O.), nur einen Moment auf dem gefärbten und abgetrockneten Präparate, so dass die Angabe KRAUSE'S in seiner schönen Abhandlung über die Neuroglia des Affenrückenmarks (pag. 6), dass ich eine 10 Minuten lange Einwirkung des Jodjodkaliums empfohlen hätte, auf einem Versehen beruht. Meine Bemerkung, dass die Jodlösung eine in 5%iger Jodkaliumlösung gesättigte sein müsse (pag. 142), ist mehrfach unbeachtet geblieben, und es sind darauf sicherlich manche Misserfolge bei der Anwendung meiner Methode zurückzuführen.

Nach der Jodirung werden die Schnitte wieder abgetrocknet, mit Anilinölxylol (1:1) differenzirt,* sorgfältig mit Xylol abgespült und in Balsam eingeschlossen. Als bester hat sich mir in neuerer Zeit der Kolophonium-Terpentinlack bewährt. Derselbe ist in der mikroskopischen Technik von LEE und MAYER (Berlin 1898, pag. 233) erwähnt, und mein damaliger Assistent Dr. HELBING hat mich auf diese Stelle hingewiesen.

* * *

Es bleibt uns noch übrig, einige andere Methoden zur Färbung der Neuroglia zu besprechen, die auf andern Principien wie die meinige beruhen.[1]) Einige derselben entsprechen höheren Anforderungen deshalb nicht, weil sie die Neuroglia nicht elektiv färben. Zu diesen gehört in erster Linie die Färbung der Schnitte mit Säurefuchsin-Pikrinsäure. Der erste, der eine solche Kombination verwendet hat, war LUIGI MARIA PETRONE.[6]) Sein Verfahren wurde aber in keiner Weise bekannt, so dass es erst VAN GIESON[7]) vorbehalten war, diese von ihm selbständig erfundene Methode einzuführen. VAN GIESON'S Methode wurde dann von KULTSCHITZKI etwas modificirt. Gerade für die Neuroglia ist aber die sonst so werthvolle VAN GIESON'sche Methode nicht zu empfehlen. Sie ist gar zu wenig elektiv. Besser soll sie wirken, wenn man nicht Alaunhämatoxylin, sondern Eisenhämatoxylin als Nebenfarbe anwendet (BENDA, a. a. O.).

Auch die HEIDENHAIN'sche Eisenhämatoxylinmethode ist für die Neurogliaforschung verwerthet worden, und zwar von ERIK MÜLLER[8]) mit sehr gutem Erfolge bei ganz tief stehenden Vertebraten. Er macht aber selbst darauf aufmerksam, dass sie bei höheren Wirbelthieren nicht benutzbar wäre. Der Grund für diesen Unterschied ist von BENDA wohl richtig erkannt worden. Er sagt, dass die günstigen Erfolge bei jenen niederen Thieren darauf zurückzuführen wären, dass hier die Markscheiden, die sich sonst so leicht mitfärben, weniger mit Hämatoxylin färbbar seien. Ausser ERIK MÜLLER hat dann auch noch JOSEPH[9]) an Wirbellosen die HEIDENHAIN'sche Färbung zur Darstellung der Neuroglia benutzt. Nach der BENDA'schen Bemerkung wird man die guten Resultate an wirbellosen Thieren erst recht verständlich finden.

Weiterhin ist der MALLORY'schen Färbungen zu gedenken. Wir verdanken diesem geschätzten Forscher eine ungemein interessante Bereicherung der Hämatoxylintechnik, auf die vor ihm keiner gekommen war, nämlich

* Die Sorte des Anilinöls schien mir ganz gleichgiltig zu sein. Ich benutze das MERCK'sche Anilinum purissimum pro analysi, das nicht so dunkel wird, habe aber früher ohne sonderlichen Unterschied auch andere, weniger reine Sorten verwendet.

die Verwendung der Phosphormolybdän- und Phosphorwolframsäure zur Lackbildung. Die erstere Säure hat er wesentlich zur Darstellung der Axencylinder empfohlen, doch ist sie auch zur Untersuchung der Neuroglia sehr geeignet, wenn es (wie etwa in Gliomen) nicht auf eine besonders differenzirte Färbung ankommt. Die Neuroglia wird durch Hämatoxylin-Phosphormolybdänsäure tief schwarz. —

Die Phosphorwolframsäure in Verbindung mit Hämatoxylin führt uns zu der zweiten Gruppe der anderweitigen Neurogliafärbungen, nämlich zu denen, die eine differenzirte Tinktion der Nervenstützsubstanz anstreben. Die Methode wird von MALLORY[10]) auf Präparate angewendet, die in der früher angegebenen Weise mit Formol, Pikrinsäure und Ammoniumbichromat vorbehandelt waren. Die Schnitte werden dann in Kalium hypermanganicum oxydirt, in 1%iger Oxalsäurelösung reducirt, ausgewaschen und dann 12—24 Stunden oder länger mit einer Flüssigkeit gefärbt, die aus 0,1 Grm. Hämatoxylin, 80 Ccm. Wasser, 20 Ccm. einer 10%igen Lösung von Phosphorwolframsäure und 0,2 Ccm. Wasserstoffsuperoxyd besteht. Will man die Neuroglia nicht isolirt gefärbt erhalten, so wäscht man die Schnitte rasch in Wasser aus, bringt sie in Alkohol, Origanumöl und endlich in Balsam. Dann erscheinen die Axencylinder und die Nervenzellen hellrosa, das Bindegewebe dunkelrosa, die Neuroglia hingegen und die Kerne erscheinen blau. Wünscht man aber die Neuroglia, und zwar in haltbarem Zustande isolirt tingirt zu erhalten, so differenzirt man die Schnitte nach der Färbung noch in einer 30%igen alkoholischen Lösung von (trockenem) Ferrum sesquichloratum 5—20 Minuten lang. Dann sind in der That nur die Neurogliafasern dunkelblau gefärbt, alles andere ist blass gelblich oder grau.

Auch BENDA (a. a. O.) hat eine differenzirte Neurogliafärbung nach neuen Principien angegeben, über die in einem besonderen Artikel berichtet wird.

Endlich sei noch die Methode von YAMAGIVA[12]) erwähnt. Er benutzt in MÜLLER'scher Flüssigkeit ungefähr einen Monat lang gehärtete Präparate, färbt die daraus gewonnenen Schnitte in koncentrirter alkoholischer Eosinlösung 12 Stunden oder länger, bringt sie dann für 4—6 Stunden in koncentrirte Lösung von wasserlöslichem Anilinblau in Wasser und wäscht sie entsprechend einer von mir vor vielen Jahren für die Markscheidenfärbung empfohlenen Art und Weise in verdünntem, durch Zusatz von etwas Kalilauge alkalisch gemachtem Alkohol aus. In diesem Alkohol werden die Schnitte röthlich-bräunlich, um dann aber nach Uebertragung in Wasser wieder blau zu werden, also ähnlich wie das von mir damals angewandte Säurefuchsin (ebenfalls eine »saure« Anilinfarbe, wie Anilinblau) sich verhielt. Dann erst wird das überschüssige Anilinblau durch Alkohol ausgezogen, wobei die Schnitte einen röthlichen Farbenton bekommen. Sie wurden dann in Origanumöl gebracht (worin sie wieder etwas blauer werden) und in Balsam eingeschlossen. Die Axencylinder sind dabei tiefblau, die Neuroglia schön roth, die Markscheiden sind himmelblau bis grünlich, die Ganglienzellen blassbläulich grau. Auch YAMAGIVA giebt an, dass die Färbung nur dann gelingt, wenn kleine Stückchen in die MÜLLER'sche Flüssigkeit gelegt werden.

Die Färbung von YAMAGIVA beruht also auf einer Eosinfärbung mit nachfolgender STRÖBE'scher Axencylinderfärbung.[13]) Sie sucht eine elektive Neurogliatinktion dadurch zu erzielen, dass die andern Bestandtheile des Centralnervensystems mit einer andern Farbe besetzt werden.

* * *

Zum Schlusse sei noch darauf hingewiesen, dass alle die genannten Färbungen nur eine ganz bestimmte »Neuroglia« zur Darstellung bringen,

es tritt durch sie nur das hervor, was ich selbst als »Neurogliafasern« bezeichnet habe. Von Zellen kann man nur diejenigen als sicher zur Zwischensubstanz des Nervensystems gehörend deuten, die mit diesen Fasern in eigenartigem Kontiguitätsverhältnisse stehen. Das sind also diejenigen Elemente, die bei der GOLGI'schen Imprägnation, bei einfacher Karminfärbung oder bei Betrachtung ungefärbter Präparate, z. B. bei Zerzupfungen, als die bekannten DEITERS'schen Zellen, Spinnenzellen oder Astrocyten erscheinen, bei denen Faser und Zellkörper einheitlich aussehen, während bei den elektiven Neurogliafärbungen der chemische Unterschied des Zellkörpers und der »Zellfortsätze« (d. h. der Fasern, die sich aus dem Protoplasma differenzirt haben) deutlich hervortritt. Ich habe aber in meinem Buche wiederholt darauf hingewiesen, dass es sehr wohl denkbar sei, dass neben diesen (fälschlich) sogenannten Astrocyten etc. sogar normaler Weise auch noch andere bisher unbekannte Zwischensubstanzen im Centralnervensystem vorhanden sein könnten (z. B. pag. 29). An dieser Ansicht halte ich auch fest, aber ich muss durchaus betonen, dass jemand, der andere Neurogliasubstanzen als die genannten im Centralnervensystem gefunden zu haben angiebt, das auch strikte beweisen muss. Mit der blossen Behauptung ist es nicht gethan. Wieso aber gerade die von mir empfohlene Methode zum Nachweis der speciellen Neuroglianatur der dargestellten Elemente dienen kann, das habe ich in meinem Buche in dessen drittem Abschnitte sehr ausführlich erörtert.

Litteratur: 1) BENDA (Neurol. Centr. 1900), 2) BENECKE (Centr. path. Anat., Bd. 4, 1893), 3) DURIG (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), 4) STORCH (VIRCH. Arch., Bd. 157, 1900), 5) R. KRAUSE (Abh. Akad. Wiss. Berlin, 1899), 6) PETRONE (Gazz. Ospedali 1888), 7) VAN GIESON (New York med. Journ. 1889), 8) E. MÜLLER (Arch. mikr. Anat., Bd. 55, 1900), 9) JOSEPH (Untersuchungen üb d. Stützsubstanzen d. Nervensystems, Wien 1892), 10) MALLORY (Journ. exper. med., Vol. 10, 1900), 11) HUBER (Amer. Journ. Anat., Bd. 1, 1901), 12) YAMAGIVA (VIRCH. Arch., Bd. 160, 1901), 13) STRÖBE (Beitr. path. Anat., Bd. 13, 1893).

Weigert, Frankfurt.

Neurogliafärbung nach C. BENDA. Die Entdeckung, dass eine isolirte Färbung der Fibrillen der Neuroglia möglich ist, und die genaue Angabe einer hierzu geeigneten Methode rührt bekanntlich von C. WEIGERT 1) her. Erst nach dem Bekanntwerden der WEIGERT'schen Präparate, aber vor dem Erscheinen seiner ausführlichen Publikation hatte BENEKE 2) ebenfalls eine Methode veröffentlicht, die eine der WEIGERT'schen ähnliche Färbung auf anders gehärtetes Material anwandte; nach WEIGERT's Veröffentlichung wurden noch von ERIK MÜLLER 3) und YAMAGIVA 4) andere, von der WEIGERT'schen abweichende, denselben Effekt erzielende Verfahren beschrieben. Ich 5) habe mich anfänglich weniger mit der Erfindung einer neuen Neurogliafärbung als mit der Prüfung der zum Zustandekommen der Färbung nöthigen Bedingungen beschäftigt, und bin dabei allerdings ausser zu verschiedenen Modifikationen und Kombinationen der anderen Verfahren schliesslich auch zu einer neuen selbständigen Methode gelangt, die hinsichtlich der Gliafärbung dasselbe leistet wie die übrigen, andererseits aber durch ihre mathematische Sicherheit für menschliches und jedes Wirbelthiermaterial, sowie durch die bessere Darstellung der übrigen histologischen Bestandtheile die anderen übertrifft.

Zu allen Darstellungen der Gliafasern sind zwei von einander relativ unabhängige Momente zu berücksichtigen: eine geeignete Fixirung und eine geeignete Färbung. Bei einer geeigneten Fixirung lassen sich alle geeigneten Färbemethoden und eine geeignete Färbemethode bei allen geeigneten Fixirungen mit Erfolg anwenden. Das Wesen der Fixirung liegt in einer gleichmässigen schnellen Durchdringung des Gewebes mit dem Härtungsmittel und einer damit verbundenen Chromirung. WEIGERT erreichte das

ausschliesslich an menschlichem Material mit einer Härtung durch 10%iges Formol und damit verbundener oder folgender Chromirung durch sein Chromalaun-Kupferacetat-Essigsäuregemisch. Dasselbe bewirkt selbst MÜLLER-sche Flüssigkeit, wenn sie auf hinreichend kleine Gewebsstücke angewandt wird (YAMAGIVA). Sicherer als MÜLLER'sche Flüssigkeit arbeiten Formol-Kaliumbichromatgemische (ERIK MÜLLER), Chromsäure (ich), besonders aber ZENKER'sche Flüssigkeit (W. ROSENTHAL[6]).

Eine absolut sichere Härtung der Gliafasern für menschliches und Wirbelthiermaterial ist aber die folgende, von mir[7]) zunächst für andere Zwecke angegebene Härtung: Fixirung des frischen Materials in 90%igem Alkohol, Chromirung durch nacheinanderfolgende Behandlung mit 10%iger Salpetersäure, Kaliumbichromatlösung, Chromsäurelösung.

Von Färbungen, die sowohl an Gefrierschnitten wie an Celloidinschnitten, am besten aber an aufgeklebten Paraffinschnitten gelingen, habe ich zur Darstellung der Gliafasern an diesem Material: *a)* Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN (ERIK MÜLLER), *b)* Eisenhämatoxylin mit Differenzirung durch WEIGERT's Boraxblutlaugensalzgemisch, *c)* Eisenhämatoxylin mit Differenzirung durch VAN GIESON's Pikrinsäure-Säurefuchsingemisch, *d)* WEIGERT's Gliafärbung (von mir modificirt) erprobt. Am meisten empfehle ich wegen der prägnanten Kontrastfärbung des Zellleibes, der Axencylinder und des leimgebenden Bindegewebes *e)* die von mir angegebene Färbung mit dem Doppellack Eisenalizarin. Toluidinblau mit nachfolgender Kreosotdifferenzirung.

Der Gang des Verfahrens ist der folgende:

I. Härtung.

1. Einlegen des frischen Materials in 90—93%igen Alkohol für mindestens zwei Tage bis beliebig lange.

N. B. Eine Verwendung absolut frischen Materials ist gewiss auch hier vortheilhaft, aber nicht so ängstlich zu beachten wie bei den anderen Methoden. Ich habe die Fasern an 24 Stunden p. m. secirtem menschlichen Material mit Sicherheit konservirt. Ein bis zwei Centimeter dicke Scheiben werden gleichmässig durchdrungen, wenn man die bei allen Alkoholhärtungen empfehlenswerthen Kunstgriffe benutzt, durch Lagerung der Stücke auf Fliesspapier oder Watte oder durch freies Aufhängen ein allseitiges Eindringen der Flüssigkeit zu befördern, und relativ grosse Mengen Flüssigkeit verwendet, sowie den Spiritus mindestens einmal, und sobald er trübe wird, erneuert. Die Zeit, die die Stücke nach vollendeter Härtung im Spiritus bleiben können, scheint unbegrenzt zu sein; die Darstellung ist mir an fünf Jahre altem Material tadellos gelungen. Die angegebene Mindestzeit von 48 Stunden braucht bei sehr kleinen Stücken vielleicht nicht einmal abgewartet zu werden.

2. Die Stücke kommen in höchstens 0,5 Cm. dicken Scheiben in verdünnte officinelle Salpetersäure (1 Vol. Acid. nitr. auf 10 Vol. Aqu. comm.) auf 24 Stunden.

N. B. Wenn die erste Portion Salpetersäure zu stark mit Alkohol verunreinigt ist, muss sie einmal erneuert werden.

3. 24 Stunden in Sol. Kal. bichromic. 2 : 100.

4. 48 Stunden in Sol. Acid. chromic. 1 : 100.

5. Wässern (24 Stunden in mehrmals erneuertem Wasser), Härten in steigendem Alkohol, Durchtränkung mit Paraffin.

N. B. Die Paraffindurchtränkung, bei der lange starke Erwärmung vermieden werden muss, nehme ich in folgender Weise vor:

a) nach Alkoh. absol. 24 Stunden in Buchenholzkreosot, *b)* 24 Stunden in Benzin, *c)* mehrere Tage in Benzin, welches mit 42° schmelzbarem Paraffin gesättigt ist, zuerst in gedeckten, dann in offenen Schalen, *d)* 24 Stunden in einen Brütofen von 38°, *e)* unter Hinzufügung von bei 42° geschmolzenem Paraffin zwei Stunden in den Ofen von 45°, *f)* die aus dem Paraffin genommenen und oberflächlich mit Fliesspapier abgetrockneten Stücke werden mit Paraffin von 58° Schmelzpunkte umgossen.

II. Färbung der aufgeklebten und von Paraffin befreiten Schnitte.

A. Färbung mit Eisenhämatoxylin, Differenzirung mit 2%iger Eisenalaunlösung (nach Heidenhain) unter Kontrole des Mikroskops.

B. Färbung mit Eisenhämatoxylin, Differenzirung mit dem zur Markscheidenfärbung von Weigert angegebenen Borax-Blutlaugensalzgemisch.

C. Färbung mit Eisenhämatoxylin. Differenzirung mit van Gieson's oder Hansen's Pikrinsäure-Säurefuchsingemisch.

D. Modificirte Weigert'sche Gliafärbung.

1. Die Schnitte kommen aus Aq. dest. auf 5 Minuten in 0,5%ige Lösung von Kaliumpermanganat, bis sie dunkelbraun sind.

2. Reduktion in Pal's Natriumsulfit-Oxalsäuregemisch, bis die Schnitte weiss sind (ca. 3 Minuten).

3. Abtrocknen mit Fliesspapier, Färben mit Weigert's Methylviolett-Oxalsäurelösung oder meinem haltbaren Krystallviolett-Anilinwassergemisch (1 Vol. kalt in 70%igem Alkohol gesättigter Krystallviolettlösung, 1 Vol. Salzsäurespiritus, 2 Vol. Anilinwasser, vorräthig bei Grübler).

N.B. Die aufgeklebten Schnitte stossen anfänglich die Farbe etwas ab; man muss daher einige Minuten warten oder die Farblösung über dem Schnitt erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen.

4. Abtrocknen, Ueberspülen mit Lugol'scher Lösung.

5. Abspülen mit Wasser, gründlich mit Fliesspapier trocknen, dann Differenziren mit Anilinöl-Xylol aa, bis keine Farbe mehr abgeht.

6. Abtrocknen, mehrmals mit Xylol überspülen, dann Balsam.

E. Eisenalizarin-Toluidinblaufärbung.

1. Beizen der Schnitte 24 Stunden in 4%iger Eisenalaunlösung oder verdünntem Liqu. ferr. sulfur. oxydati 1:2 Vol. Aq. dest.

2. Abspülen in fliessendem Wasser oder in mehreren Wasserschalen.

3. 24 Stunden in dünner bernsteingelber wässeriger Lösung von sulfalizarinsaurem Natrium (Kahlbaum).

N.B. Bei Bezug von Grübler ist Marke »Kahlbaum« hinzuzufügen.

4. Eintauchen in Wasser und Abtupfen mit Fliesspapier.

N.B. Um die Rothfärbung lebhafter zu machen, kann man die Schnitte auch in eine dünne Lösung von einfachbromsaurem Kalium eintauchen, dann gründlich in Wasser abspülen und trocknen.

5. Färbung in 0,1%iger wässeriger Lösung von Toluidinblau, Erwärmen bis Dämpfe aufsteigen, dann etwa 15 Minuten in der erkaltenden Flüssigkeit oder 1—24 Stunden in kalter Toluidinblaulösung.

6. Eintauchen in 1%ige Essigsäure oder stark verdünnte Pikrinsäure.

7. Abtrocknen mit Fliesspapier, Eintauchen in Alkohol absolutus.

8. Differenziren in Buchenholzkreosot ca. 10 Minuten unter schliesslicher Kontrole des Mikroskops.

N.B. Bei schwacher Vergrösserung muss alles Bindegewebe und die Axencylinder roth, die Zellkerne blau erscheinen. Grössere Gliaanhäufungen,

wie die um den Centralkanal, müssen sich schon makroskopisch scharf blau gegen die blassviolette Umgebung abheben.

9. Abtrocknen mit Fliesspapier, mehrmaliges Ueberspülen mit Xylol, Balsam.

Die gleichen Härtungen und Färbungen dienen auch zur Darstellung der Centralkörperchen, der Muskelquerstreifen, des Fibrins und einiger Sekretgranulationen.

Litteratur: [1a]) C. Weigert (Anat. Anz. 1890), [1b]) derselbe (Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1890). [1c]) derselbe (Beiträge zur Kenntniss der normalen menschlichen Neuroglia, Festschr., Frankfurt a. M. 1895), [2]) Beneke (Verh. d. anat. Ges. Göttingen, 1893), [3]) Erik Müller (Arch. mikr. Anat., Bd. 55, 1899), [4]) Yamagiva (Virch. Arch., Bd. 160, 1900), [5]) C. Benda (Neurol. Centr. 1900, Nr. 17), [6]) W. Rosenthal (Beitr. path. Anat. Bd. 23, 1898), [7]) C. Benda (Verh. d. phys. Ges. Berlin, 1. u. 2., 24. November 1900; Verh. anat. Ges. Bonn 1901).

Benda, Berlin.

Neurokeratin siehe Nervenfasern, Neurokeratin.

Neuropteren siehe Arthropoden.

Neutrale Farbstoffe und Farbgemische.

I. Allgemeines.

Die einfachen Farbstoffe, insbesondere die Anilinfarben, meist als Salze von Farbbasen oder Farbsäuren für die mikroskopische Technik in Verwendung, sind niemals neutral; ihr färbendes Princip wirkt entweder als Säure oder als Base, und die Gewebe, je nachdem sie selbst saure oder basische Eigenschaften besitzen, bevorzugen bald diejenigen Farbsalze, denen eine Base, bald diejenigen, denen eine Farbsäure zugrunde liegt. Es sind Beweise genügend vorhanden für diese chemische Gewebsfärbung, wiewohl daneben auch nach Art der Tünchung oder Durchtränkung oder Adsorption oder starren Lösung (Witt) eine physikalische Farbstoffimbibition existirt, die zuweilen recht intensiv und schwer entfernbar, also ziemlich echt genannt werden kann.

Wenn nun alle Farbstoffe in der eben bezeichneten Weise entweder einen sauren oder einen basischen Charakter besitzen, so ist es schon theoretisch einleuchtend, dass sie untereinander Verbindungen eingehen können von der Art, dass die basischen mit den sauren unter vollkommener Sättigung ihrer Affinitäten zu einem neuen neutralen Farbstoff vereinigt werden können.

Der erste, der solche neutrale Farbkörper wirklich darstellte und verwendete, ist Ehrlich gewesen, welcher besonders das Triacid (s. u.) als neutralen Farbstoff für die mikroskopische Technik des Blutes einführte, ein Farbstoff, der später auch für die Gewebe von Biondi und R. Heidenhain und von Rosin für das Nervengewebe erfolgreich verwendet wurde.

In neuerer Zeit hat auch die Verbindung des Methylenblau mit dem Eosin namentlich für Blutfärbung allgemeine Anwendung gefunden.

Die Darstellung neutraler Farbstoffe aus je einem basischen und sauren gelingt mit grosser Leichtigkeit. Wie Rosin gezeigt hat, sind die neuen Verbindungen stets in Krystallen, also chemisch rein zu erhalten. Sie entstehen, indem man die wässerigen Lösungen des einen mit der wässerigen des anderen versetzt. Der neugebildete Farbstoff fällt dann aus, da die Neutralfarben in Wasser unlöslich sind. Doch gelingt diese Ausfällung vollkommen nur bei genauestem Vorfahren in wässerigen Lösungen. Bei einem Ueberschuss der einen der beiden Farbstoffkomponenten bleibt immer ein Theil der neugebildeten Neutralfarbe in Lösung (Ehrlich, Rosin). Also z. B.: fügt man zu einer wässerigen Lösung von Rubin S (einem sauren Farbstoff, einer Sulfosäure) von einer wässerigen Methylgrünlösung (einem basischen Farbstoff der Ammoniumgruppe) Tropfen um Tropfen hinzu, so bildet sich zwar sofort »rubinsaures Methylgrün«; dasselbe bleibt aber an-

fänglich in Lösung, nämlich im Ueberschuss des Rubins. Erst nach weiterem Zusatz und gleichzeitigem längeren Stehen beginnt der Neutralkörper auszufallen. Kommt noch mehr Methylgrün hinzu, so kann ein Moment erreicht werden, in welchem sämmtlicher Farbstoff ausgefallen und die Flüssigkeit nahezu farblos geworden ist. Fügt man nun noch weiter Methylgrün hinzu, so beginnt sich wiederum ein Theil des Farbkörpers aufzulösen. Im allgemeinen gilt die Regel, dass der neutrale Farbstoff im Ueberschuss der Säure besser als im Ueberschuss der Base löslich ist. In Wasser aber ist der Neutralfarbstoff, aus welchen Farben er auch gebildet worden ist, stets unlöslich; nur unter Zersetzung, unter Dissociation, gelingt es, namentlich mit kochendem Wasser, geringe Mengen davon aufzulösen. Dasselbe gilt vom Zusatz von Säuren oder Alkalien.

Unter den unzähligen Verbindungen, die sich so unter den Farben herstellen lassen, haben aber für die Färbetechnik praktische Bedeutung nur eine begrenzte Anzahl gefunden.

Unter den basischen Farben eignen sich diejenigen, welche die sogenannte Ammoniumgruppe enthalten (Methylgrün, Methylenblau, Amethystblau, Pyronin, Rhodamin), von den Säuren besonders die leichtlöslichen Salze der Sulfosäuren (Orange G, Säurefuchsin, Narceïn) und unter den Karbonsäuren nur das Eosin (Ehrlich).

Wie schon erwähnt, sind die reinen, krystallisirten Neutralfarben in Wasser unzersetzt nicht löslich, in alkoholischer Lösung aber entfalten sie zumeist nur eine schwache färberische Kraft. Um sie in wässeriger Lösung wirken zu lassen, giebt es nun folgende Mittel:

1. Man löst die Farben auf in einem Ueberschuss der Farbsäure.

2. Die Neutralfarbe wird im Ueberschuss der Base aufgelöst.

3. Man versetzt das Wasser mit einer färberisch indifferenten, aber den neutralen Farbstoff lösenden Flüssigkeit. Man bereitet sich alkoholisch-wässerige Lösungen, oder man fügt statt Alkohol Methylal oder Aceton hinzu.

4. Ganz besonders wirksam für die Färbung erweist sich der neutrale Farbkörper in statu nascendi. Man vereinigt also Farbbase und Farbsäure und färbt unmittelbar während der Bildung des Neutralkörpers. Farbige Nebenprodukte (Beimengungen der Farbbase) scheinen in dieser Periode auch ihrerseits noch eine besondere Wirkung zu entfalten (Romanowski'sche Färbung).

So finden die Neutralfarben, welche also krystallisirte Verbindungen aus einer Farbsäure und einer Farbbase sind, in reinem Zustande keine Anwendung in der mikroskopischen Technik, sondern nur in Farbgemischen in der genannten Weise. Es kann also nicht von Neutralfarben, sondern nur von neutralen Farbgemischen in der neueren Färbetechnik die Rede sein. Erfahrungsgemäss aber kommt in ihnen die Wirkung der Neutralfarbe vollauf zur Geltung: die Gewebe färben sich chemisch in dem Sinne, dass die basophilen Bestandtheile sich die Base, die oxyphilen die Säure aus der Neutralfarbe abspalten, resp. die in der Lösung theilweise in Dissociation befindlichen Farbkomponenten aufnehmen, während die neutrophilen Gewebe die Farbe als solche annehmen. Je basophiler ein Gewebe, um so entschiedener entspricht die Farbnuance der Base, je oxyphiler, um so mehr derjenigen der Säure. Dass neben dieser chemischen Färbung, wie bei jeder Farbwirkung auch die physikalischen Eigenschaften der Neutralfarbe, ihrer Komponenten und ihres Lösungsmittels sich geltend machen, ist selbstverständlich.

Es verdient schliesslich hervorgehoben zu werden, dass die Affinität, welche Farbsäuren und Farbbasen untereinander besitzen, auch dann nicht ganz ohne Einfluss bleibt, wenn man mit sauren und basischen Farben nicht gleichzeitig, sondern nacheinander färbt. Es wird hier die von

dem einen Farbstoff eben erzielte Farbwirkung durch das Hinzufügen des zweiten modificirt und je nach der Koncentration der Farblösung und je nach der Dauer ihrer Einwirkung wird man wechselvolle Bilder erhalten; insofern die eine Farbe die andere zu neutralisiren und mit ihr unlösliche Verbindungen einzugehen vermag, wird man es sich auch erklären können, dass bei einer gewissen Form der Anwendung die eine Farbe entfärbend auf die andere wirken kann. Im allgemeinen sind daher die Resultate der Nacheinanderfärbung schlechter als die der Simultanfärbung.

Die Einführung von Säuren oder Alkalien bei der Färbung mit Neutralfarbstoffen ist völlig zu verwerfen, ihre Verwendung widerspricht den obigen theoretischen Erwägungen und hat deshalb auch praktisch niemals einen Erfolg gehabt, wo die Absicht vorlag, den Geweben die elektive Färbung zu ermöglichen.

II. Specielle Färbungsmethoden.

A. Lösung des neutralen Farbstoffes im Ueberschuss der Säure.

1. EHRLICH's Triacidlösung. Dieses erste und für die Mikroskopie wichtige Neutralgemisch verdient wegen seiner eigenartigen Konstitution und seines Namens eine kurze theoretische Besprechung:

Die Farbstoffe der Ammoniumgruppe, zu denen z. B. Methylenblau, Methylgrün gehören, enthalten drei basische Gruppen. Wird soviel von dem sauren Farbstoff oder noch mehr hinzugefügt, dass alle drei basischen Gruppen durch saure gesättigt sind, so entsteht eine triacide Verbindung.

Im EHRLICH'schen Triacid findet sich das Methylgrün aber nicht durch eine, sondern durch zwei Farbsäuren zu einer triaciden Verbindung neutralisirt. Wie nämlich EHRLICH gezeigt hat, können neutrale Gemische, die eine Komponente gemein haben, ohne weiteres mit einander vereinigt werden. Die triacide Verbindung des Methylgrün mit dem Rubin und diejenige des Methylgrün mit dem Orange G können ohne weitere Zersetzung gemischt werden. Vereinigt man also Methylgrün mit Säurefuchsin und Methylorange in der Menge, dass die drei basischen Gruppen des ersteren von den beiden letzteren gesättigt sind, was man leicht berechnen kann, wenn man weiss, wieviel von jeder einzelnen Farbsäure zur völligen (triaciden) Sättigung der Base nöthig ist, so erhält man eine absolut neutrale, freilich im Wasser unlösliche, triacide Verbindung des Methylgrün mit Rubin und Orange. Durch Hinzufügen eines Ueberschusses an Rubin wird dann der Farbkörper wieder in Lösung gebracht.

Auf dem eben dargestellten Princip beruht das EHRLICH'sche Triacid, bei welchem der Name naturgemäss nichts mit der Reaktion der darin gelösten drei Farbkörper zu thun hat.

Für die Blutfärbung bedient man sich des Triacids nach EHRLICH (s. Blut, pag. 88).

Färbung von Schnittpräparaten mit EHRLICH'scher Triacidlösung.

a) Nach ARONSOHN und PHILIPP: Koncentrirte wässerige Orange-G-Lösung 55,0, koncentrirte wässerige Säurefuchsinlösung 50,0, Aq. dest. 100,0, Alk. abs. 50,0. Dazu: Koncentrirte wässerige Methylgrünlösung 65,0, Aq. dest. 50,0, Alk. abs. 12,0. Man lässt die Lösung zwei Wochen ruhig stehen und färbt mit einer Mischung von einem Tropfen der Lösung auf 25 Ccm. Wasser 24 Stunden. Das Verfahren ist für Blut- wie Schnittpräparate anwendbar.

b) Triacidgemisch nach BIONDI-HEIDENHAIN für Schnittpräparate. Vorbedingung ist Sublimatfixirung und Paraffineinbettung. Die Farblösung: Koncentrirte wässerige Lösung von Methylgrün 50,0, von Orange G 100,0,

von Rubin 20,0; kann auch als trockenes Pulver von Grübler (Leipzig) bezogen werden. Zur Färbung mischt man einon Theil der Farblösung auf 100 Theile Wasser. Ein Tropfen derselben muss auf Filtrirpapier einen braunen, keinen rothen Ring in der Peripherie haben.

Die Sublimat-Paraffin-Schnitte (aus etwaiger Alkoholhärtung müssen sie für 1—2 Stunden in Essigsäure 1:100 kommen) werden aus destillirtem Wasser auf 24 Stunden in die verdünnte Farblösung gebracht, 1—2 Minuten in 90%igem Alkohol ausgewaschen, in absolutem Alkohol rasch entwässert und durch Xylol in Kanadabalsam eingeschlossen.

Kerne blaugrün, Bindegewebe und Protoplasma fuchsinroth, Erythrocyten orange. Schleim grün, Fibrin roth.

c) Rosin's Triacidgemisch für Nervenfärbung. Man verwendet für die Farblösung das Grübler'sche trockene Dreifarbgemisch (s. vorherg.). Hieraus bereitet man sich zwei Lösungen:

Lösung 1: für Schnitte, die nicht in Celloidin eingebettet sind, also z. B. Paraffinschnitte, Gefrierschnitte etc.: Man löst 0,4 Grm. des Gemisches in 100 Grm. Wasser und fügt 7 Ccm. einer $^1/_2$ %igen Säurefuchsinlösung hinzu. Dann schüttelt man kräftig durch und lässt 24 Stunden abstehen. Die Farblösung wird unfiltrirt gebraucht; sie hält sich mehrere Wochen; die Flaschen müssen säure- oder alkalifrei und mit destillirtem Wasser ausgewaschen sein. Nach 4 Wochen verschlechtert sich die Farblösung. Die Schnitte kommen in die Farblösung auf 5 Min. (auch Objektträgerfärbung der Paraffinschnitte ist möglich), werden dann flüchtig in Wasser abgewaschen, so lange die allergröbste Farbe abgeht, kommen dann in Essigsäure 1 : 1000 (2 Tropfen Eisessig auf 100 Wasser), worin die Farbe fixirt wird auf nur 10—15 Sekunden, dann zum Entfernen der Essigsäure zurück in destillirtes Wasser und von da in Alk. abs., so lange kräftig Farbe abgeht (ca. 1—2 Minuten), dann sofort in Xylol und Xylolkanadabalsam. Die Präparate sind, wenn vorschriftsmässig angefertigt, unbedingt haltbar. Formolhärtung oder Alkoholhärtung ist am vortheilhaftesten, doch ist auch Färbung des zerzupften Materials oder der Gefrierschnitte möglich.

Lösung: 2 für Celloidinschnitte. Dieselbe wird aus Lösung 1 hergestellt, indem man zu 4 Theilen derselben noch 1 Theil $^1/_2$ %ige Säurefuchsinlösung hinzufügt. Diese Lösung ist etwas länger haltbar, ca. 2—3 Monate. Man färbt 1—2 Minuten. Die weitere Behandlung der Schnitte ist die nämliche wie bei Lösung 1.

Effekt der Färbung: Kerne des Bindegewebes, der Gefässe, der Glia blau, letztere oft mit rothen Kernkörperchen, Bindegewebe, Gefässwand hochroth, Protoplasma aller Zellen rothviolett, rothe Blutkörperchen orange, Gliagewebe violett, Achsencylinder violett, Markscheiden in Formol- und Chromhärtung gelb bis orange, Nervenzellen: in Formol- und Alkoholhärtung sind die Nissl'schen Granula blau in blassrosa Grundsubstanz, das Chromatin der Kerne violettroth, das Kernkörperchen violett, in Chromhärtung ist der Leib der Nervenzollen roth, wie auch das Chromatin des Kerns und das Kernkörperchen. Das Fett etwaiger Körnchenzellen wird bei Chromhärtung gelb. Das Lipochrom der Nervenzellen behält seine ursprüngliche Farbe bei.

Die Lösung 1 und 2 kann auch für die Färbung aller anderen Organe verwendet werden.

2. Ehrlich's noutrales Farbgemisch. 5 Volumina koncentrirte wässrige Säurefuchsinlösung werden unter fortwährendem Umrühren mit einem Volumen koncentrirter wässriger Methylenblaulösung gemischt; sodann werden 6 Volumina Aqu. destill. hinzugemischt. Man lässt mehrere Tage abstehen und färbt mit dem Filtrat 5—20 Minuten.

Zur Blutfärbung geeignet: Kerne blau, rothe Blutkörperchen roth. neutrophile Körnung violett, eosinophile roth.

3. PAPPENHEIM's panoptische Triacidfärbung. PAPPENHEIM hat aus gewissen Erwägungen das EHRLICH-Triacid insoferne modificirt, dass er an Stelle der Farbbase Methylgrün eine andere setzte, und zwar empfiehlt er zwei Modifikationen:

a) Den unter dem Namen »panoptischer Triacidtrockenrückstand« bei GRÜBLER erhältlichen pulverförmigen Farbstoff. Hier ist statt Methylgrün als Base Methylenblau eingefügt.

b) Oder »panoptische Triacidlösung« (GRÜBLER). Hier ist statt Methylgrün Methylenazur als Base verwendet. Bei letzterem ist es zuweilen vortheilhaft, die Kerne mit koncentrirter wässeriger Toluidinblaulösung vorzufärben.

B. Lösung des neutralen Farbstoffes in einem Ueberschuss der Base.

Hier ist nur Methylenblau-Eosin in Gebrauch.

1. CHENZINSKY'sche Lösung:

Koncentrirte wässerige Methylenblaulösung 40 Ccm., $^1/_2$ %ige Eosinlösung in 70%igem Alkohol 20 Ccm., Aqua destillata 40 Ccm.

Die Lösung ist ziemlich haltbar, vor dem Gebrauch jedoch stets zu filtriren. Die Blutpräparate müssen 5 Minuten in Alkohol fixirt werden. Dauer der Färbung 6—24 Stunden in luftdicht verschlossenen Blockschälchen bei Brutwärme.

Kerne und Mastzellengranula dunkelblau, Erythrocyten und eosinophile Granula roth. Die neutrophile Körnelung tritt nicht hervor. Malariaplasmodien himmelblau.

2. PLEHN's Lösung für die Malariafärbung:

Koncentrirte wässerige Methylenblaulösung 60 Ccm., $^1/_2$ %ige Eosinlösung in 75%igem Alkohol 20 Ccm., Aqua destillata 40 Ccm., 20%ige Kalilauge 12 Tropfen.

Man verwendet durch Hitze gehärtete Bluttrockenpräparate.

C. Lösung des Neutralkörpers in Wasser durch ein Lösungsmittel.

1. Durch Anwendung von Methylal nach EHRLICH (für Blutfärbung):

1%ige wässerige Eosinlösung 10 Ccm., Methylal 8 Ccm., gesättigte wässerige Methylenblaulösung (medicinale) 10 Ccm.

Die Farbe muss sofort verwendet werden, Farbdauer 1, höchstens 2 Minuten.

Die Präparate müssen sehr sorgfältig durch Hitze fixirt werden. Mastzellengranula blau, eosinophile Granula roth, neutrophile im Mischton.

2. Durch Anwendung von Aceton nach L. MICHAELIS. Diese Methode ist von dem Autor durch eine wirkungsvollere Färbung (s. unten) ersetzt worden.

D. Verwerthung des Neutralfarbstoffes in statu nascendi (in Verbindung mit farbigen Nebenprodukten).

Hierfür ist bis jetzt nur eosinsaures Methylenblau in Verwendung unter der Bezeichnung ROMANOWSKI-ZIEMANN'sche Färbung.

Bei ihr ist das Vorhandensein des Methylenazur, eines rothen Farbstoffes (cfr. Metachromasie), neben den beiden Hauptfarbstoffen anscheinend Bedingung für das Zustandekommen einer gelungenen Färbung.

a) Die ursprünglich von ROMANOWSKI für die Bakterienfärbung angegebene Methode ist von verschiedenen Autoren (z. B. ZIEMANN, L. MICHAELIS, NOCHT, ROSIN, REUTER, ZETTNOW, RUGE, MAURER, BERESTREFF, HANNA) theils erklärt, theils vervollständigt worden und hat dementsprechend verschiedene Modifikationen erhalten. Näheres s. unter Malariaplasmodien, pag. 783ff.

b) Eosinmethylenblau (auch für Schnittfärbung) nach Laurent.

Nach Laurent erzielt man eine sehr wirkungsvolle Färbung, wenn man folgendermassen verfährt: Da Eosin als zweibasische Säure 2 Theile Methylenblau zu binden vermag, so werden 1000 Ccm. einer 1‰igen Eosinlösung genau 882,3 Ccm. einer 1‰igen Methylenblaulösung neutralisiren. (724 ist das Molekulargewicht des Eosin, 319,4 das des Methylenblau.) Nach zweimal 24 Stunden ist der feine Niederschlag des Eosinmethylenblau ausgefallen und die überstehende Flüssigkeit fast farblos. Laurent verfährt nun folgendermassen: Vor dem Gebrauch wird die Flüssigkeit mit dem Niederschlage kräftig durchgeschüttelt und 1 Theil der Suspension mit 4 Theilen Wasser verdünnt. Diese verdünnte Lösung wird im Reagenzglase schnell aufgekocht. Die Flüssigkeit klärt sich dabei auf und wird farbenreicher und in die noch warme Lösung kommen nun die Präparate (allzu grosse Hitze muss dabei vermieden werden) und verbleiben ½—6 Stunden darin, nicht länger als in der Flüssigkeit noch genügend gelöste Farbe vorhanden ist.

Trockenpräparate kommen nun in absoluten Alkohol, solange Farbwolken entweichen, dann in Xylol und schliesslich in eingedicktes Cedernöl.

Schnitte werden in 96%igem Alkohol kurz abgespült und in absolutem Alkohol unter mehrmaligem Wechseln 2—10 Minuten lang, eventuell auch noch viel länger, differenzirt. — Man prüft unter dem Mikroskop in Xylol, von Zeit zu Zeit den Grad der Färbung. — Dann Xylol und eingedicktes Cedernöl. Sind allzu violette Töne in den Schnitten vorhanden, so nimmt man Anilinöl-Alkohol (1:3) statt Alkohol allein. L. glaubt, dass bei dieser Methode die Farben nicht chemisch, sondern getrennt, d. h. dissociirt wirken.

Litteratur: Ehrlich-Lazarus (Anämie, Nothnagel's Handb. d. spec. Pathol. u. Therap., II. Aufl., Bd. 8, 1), Plehn (Aetiolog. und klinische Malariastud., Berlin 1890, Hirschwald). Ziemann (Centr. Bakt., Bd. 24 u. 25), H. Rosin (Berl. klin. Woch. 1898 u. Centr. Phys. 1900), Nocht (Centr. Bakt., 1899), L. Michaelis (Deutsch. med. Woch., 1899 u. 1901), Laurent (Centr. allg. Path., 1900), Maurer (Centr. Bakt., 1900), Zettnow (Zeit. Hyg., 1899 u. Deutsch. med. Woch., 1900), Pappenheim (Deutsch. med. Woch., 1901 u Grundriss d. mikr. Färbetechnik, Berlin 1901), Hanna (Lancet, 1901, April), Ruge (Einführung in d. Studium der Malariakrankh., Jena 1901).

H. Rosin.

Neutralfärbungen für Muskulatur. Giesst man eine saure und eine basische Anilinfarbe zusammen, so reagiren sie sofort mit einander und es entsteht eine Neutralfarbe, welche gewöhnlich als dunkler Niederschlag zu Boden fällt. Ehrlich hat gezeigt, dass diese Neutralfarben am besten mit Orange G in Lösung zu bringen sind und dass man mit solchen Lösungen eigenartige Färbungen erzielen kann (siehe Triacid, Biondi'sche Lösung). Es können nun die Neutralfarben auch im Schnitt entwickelt werden, wenn man mit sauren Farben vor- und mit basischen nachfärbt. In diesem Falle entsteht die Neutralfarbe im Schnitt und ist mit Alkohol, beziehungsweise Methylalkohol differenzirbar.

Für dieses Verfahren eignen sich aber bei weitem nicht alle sauren und basischen Anilinfarben, denn Bedingung ist, dass durch die chemische Vereinigung von Farbsäure und Farbbase eine einigermassen feste Verbindung entsteht und dass diese auch einigermassen fest an dem Gewebe haftet. Man wird also unter den sauren Farbsalzen nur solche wählen können, die polyacide sind, damit die Möglichkeit gegeben ist, dass die Farben mit einer Säuregruppe am Eiweiss sich fixiren, mit einer anderen die Farbbase auf sich kondensiren. Was die basischen Farbstoffe anlangt, so können nur solche in Betracht kommen, welche starke Farbbasen enthalten.

Diesen gegebenen Bedingungen entsprechen die von M. Heidenhain vorgeschlagenen Muskelfärbungen. Der Autor beizt die Schnitte mit einer

0,5—1 %igen Lösung von Thiazinroth oder Thiazinbraun (oder mit einer gesättigten Lösung von Coeruleïn S) und färbt mit Safranin (0,5—1 %), Toluidinblau (0,1 %), Thionin oder Methylenblau (0,05 %). Der Aufenthalt der Schnitte in den sauren Anilinfarben soll so bemessen sein, dass die Objekte zwar kräftig gefärbt sind, aber doch noch schön durchsichtig bleiben. Die Nachfärbung in den basischen Farben kann zwischen 1 und 12 Stunden variiren. Die Differenzirung erfolgt zunächst in Alkohol; extrahirt dieser nicht kräftig genug, so muss Methylalkohol genommen werden.

Man erhält am Muskel Färbungseffekte, wie sie bisher noch nicht gesehen wurden, erstlich nämlich eine Inversion des gewohnten Färbungsbildes der Querstreifen (gefärbt sind Z, M, J und allenfalls auch Qh, während Q ungefärbt bleibt) und zweitens eine prachtvolle Färbung der Schaltstücke in der Herzmuskulatur. Die Färbungseffekte in anderen Geweben wurden bisher noch wenig untersucht. *Martin Heidenhain.*

Neutralroth. Das Neutralroth, von Witt 1879 gefunden, von Ehrlich in die Mikroskopie eingeführt, oder Toluylenroth ist das Chlorhydrat der Base Dimethyldiamidotoluphenazin und entsteht durch Einwirkung von salzsaurem Nitrosodimethylanilin auf Toluylendiamin und Erhitzen des zuerst gebildeten Toluylenblau. Es ist ein grünschwarzes Pulver, welches in Wasser leicht mit rother Farbe löslich ist. Die rothe Farbe ist in destillirtem Wasser ziemlich stumpf (»neutral«) mit einem Stich ins Violette; schon mit sehr verdünnten organischen Säuren aber färbt es sich fuchsinroth, mit sehr verdünnten Alkalien gelbbraun. Selbst die Alkalescenz des Brunnenwassers genügt, um dünne Lösungen des Neutralroths gelbbraun erscheinen zu lassen, während koncentrirte darin sich rothbraun färben. Auch in Alkohol färbt sich Neutralroth rothbraun, in verdünnten Lösungen gelbbraun.

Allgemeine Anwendungsweise in der Mikroskopie.

In die Mikroskopie ist das Neutralroth, wie erwähnt, von Ehrlich eingeführt worden und hat sich daselbst dauernd eingebürgert. Es färbt als Farbbase Kerne und andere basophile Gewebstheile roth, so z. B. die Nissl'schen Granula, den Leib der Lymphocyten und Plasmazellen, die Granula der basophilen Myelocyten, das Mucin. Umgekehrt färbt es das Protoplasma gelb, d. h. mit der Nuance der freien Base des Farbstoffes, offenbar unter Zersetzung des rothen Farbstoffes seitens der Gewebe. Ebenso tingiren sich die meisten Granulationen (s. unten), entsprechend ihrer neutralen, resp. schwach alkalischen, dem Zellplasma gleichen Reaktion, ebenfalls gelb. Mastzellengranula färben sich metachromatisch orange. So verhalten sich im allgemeinen die Gewebe, wenn sie frisch geschnitten oder mit dem Gefrierapparat hergestellt, oder in Alkohol oder in Formol gehärtet und nach Einbettung in Paraffin oder Celloidin geschnitten der koncentrirten wässrigen Farbstofflösung etwa 10 Minuten ausgesetzt und dann nach Auswaschen in Wasser und Alkohol in Xylol-Kanadabalsam eingelegt werden.

Da das Neutralroth relativ ungiftig ist, so ist es von Ehrlich vor allem zur vitalen Färbung empfohlen worden. Bei höheren Thieren kann man es durch subkutane oder intravenöse Injektion (in physiologischer Kochsalzlösung) oder durch Verfütterung verwerthen; bei Froschlarven und Weichthieren genügt es häufig, sie in dünnerer Lösung des Farbstoffes schwimmen zu lassen. Die Färbung gelingt auch an »überlebenden« Organen, und zwar nach Ehrlich am besten in der Weise, dass man kleine Stückchen in physiologischer Kochsalzlösung, der eine Spur Neutralroth zugesetzt ist, unter reichlichem Luftzutritt eine Zeitlang schwimmen lässt.

Ist das Objekt makroskopisch geröthet, so ist es zur Untersuchung fertig. Auch in solcher Weise verwendet, eignet sich das Neutralroth zum Studium der Zellgranula. Bei vitaler Färbung mit Neutralroth färben sich Zellkern und Zellleib, zunächst wenigstens, niemals, sondern nur eine grosse Anzahl von Granula.

In sterilisirter, physiologischer Kochsalzlösung möglichst koncentrirt aufgelöst, lässt sich das ziemlich ungiftige Neutralroth Thieren Wochen hindurch je nach der Grösse täglich zu ein oder mehreren Kubikcentimetern der Lösung injiciren. Dies gilt wenigstens für Kaninchen und Meerschweinchen. Mäuse vertragen den Farbstoff nicht so lange, bei täglicher Injektion von 1 Ccm. pflegen sie nach einer Woche einzugehen. Injicirte Thiere färben sich ziemlich rasch roth. Die Farbe durchdringt die Haut, nicht nur die Schleimhäute, auch der Urin und Stuhl wird roth gefärbt entleert. Bei Untersuchung der Organe derartig roth gefärbter Thiere zeigt es sich, dass die Farbe zumeist die Lymphe und die Saftlücken zwischen den Zellen erfüllt, während Kern und Leib der Zellen selbst, bis auf gewisse oben erwähnte Granula, bei Lebzeiten die Farbe nicht annehmen. Unter den Granulis gelang es dem Verfasser niemals bei Kaninchen und Mäusen auf diese Weise die Nissl'schen Granula vital zu färben, während Arnold dies vermochte. Bemerkenswerth sind eigenthümliche Granula in den Leberzellen, die L. Michaelis mit Neutralroth hervortreten sah und deren Deutung noch aussteht.

Die rothe Farbe der Gewebssäfte vital gefärbter Thiere legt die Schlussfolgerung nahe, dass die Gewebe bei Lebzeiten nicht alkalisch reagiren, da sonst die Färbung gelb ausfallen müsste. Jedoch haben anderwärts mitzutheilende Versuche ergeben, dass die Rothfärbung hervorgerufen wird durch die in den Geweben vorhandene freie Kohlensäure trotz der Alkalescenz der Säfte.

Specielle Anwendungen des Neutralroths.

Blutfärbung.

Für die Blutfärbung ist das Neutralroth besonders von Arnold, Pappenheim, Bettmann, Rosin verwendet worden, namentlich zur vitalen Färbung des Blutes, besser gesagt, zur Färbung des überlebenden oder absterbenden Blutes (Arnold's Hollundermarkmethode). Man wird am besten die Blutfärbung derartig vornehmen (Rosin und Bibergeil, Feletti), dass man Deckgläschen mit einer dünnen, trockenen Neutralrothschicht versieht, auf diese Blut in dünner Ausbreitung überträgt und das Ganze in der feuchten Kammer untersucht. Es färben sich zunächst nicht die Kerne, sondern die Granula der Zellen. Man erkennt in den rothen Blutkörperchen eigenthümliche basophile Granula, in den weissen zumeist gelb gefärbte, neutrophile Granula, einzelne orangegelbe Mastzellengranula, während die eosinophilen die Farbe nur schlecht annehmen, und zwar mit rein gelber Tinktion. Umgekehrt färbt sich der Lymphocytenleib roth. Später tritt auch eine allerdings nicht sehr kräftige, diffuse, rothgelbe Kernfärbung ein, wobei die Kernkörperchen der Lymphocyten und der Myelocyten (oft mehrere) besonders hervortreten. Neutralroth ist wie Pyronin (nach Pappenheim) in der Kombination mit Methylengrün für eine derartige Blutfärbung des überlebenden Blutes sehr zu empfehlen.

Färbung von gonorrhoischem Sekret.

Neutralroth hat als basischer Farbstoff eine Affinität zu den Bakterien welche übrigens diejenige zu den Kernen bei weitem übertrifft. Infolgedessen färbt sich in eitrigen Flüssigkeiten, frischen oder angetrockneten

und gehärteten, welche bakterienhaltig sind, der Leib der Spaltpilze besonders rasch, und zwar roth, erst einige Zeit später tingiren sich die Kerne und das Protoplasma (Plato). In interessanter Weise tritt dies am gonorrhoischen Sekret hervor, in welchem sich zuerst die Gonokokken färben, später die Kerne der Plattenepithelien, sowie die Leukocytenkerne und deren Granulationen in den ihnen zukommenden Nuancen (s. oben). Namentlich bei der Färbung frischen, gonorrhoischen Eiters, den man »vital« färbt, tritt dieses Verhalten deutlich hervor (Plato, Uhma, Bibergeil).

Neutralroth als Unterscheidungsmittel zwischen Typhusbacillen und Colibacillen.

Wenn man Nährboden aus Gelatine oder Agar mit Neutralroth färbt — wegen der Alkalescenz verändert sich die gelbe Färbung des Nährbodens durch den Farbstoff nur wenig — so tritt ein Unterschied auf, je nachdem man Typhus- oder Colibacillen darauf impft. Die Typhusbacillen bewirken keine Farbänderung oder höchstens entsprechend ihrer Säurebildung eine schwache Rothfärbung in der Gegend ihres Wachsthums, die Colibacillen aber bewirken eine intensiv grüne Fluorescenz (Rothberger). Diese auch von Scheffler, Alfred Wolff und vom Verfasser ohne Kenntniss der Rothberger'schen Untersuchungen sicher festgestellte Thatsache beruht nach Ehrlich auf der Bildung eines Reduktionsproduktes. Die Typhusbacillen reduciren nicht wie die Colibacillen und sind so leicht durch den Farbstoff unterscheidbar.

Neutralroth zur Färbung von Nervenzellen.

In Formol gehärtetes Nervenmaterial, welches nachher in Celloidin eingebettet und geschnitten worden ist, lässt sich zur Darstellung der Nissl-schen basophilen Granula besonders leicht mit Neutralroth färben (Rosin). Man lässt die Schnitte eine halbe Stunde in koncentrirter, wässeriger Neutralrothlösung liegen, wäscht sie in Wasser aus und extrahirt gründlich in Alkohol, dann Eintragung in Xylol und Kanadabalsam; alle Kerne, sowie die Nissl'schen Granula werden leuchtend roth, während der Zellleib sich schwach gelb färbt.

Litteratur: Ehrlich (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893 und Allg. med. Centralzeitung, 1894), Plato (Berl. klin. Woch., 1899), derselbe (Arch. mikr. Anat., 1900, Bd. 56). derselbe (Münch. med. Woch. 1900), Uhma (Arch. Derm. Syph., 1899, Bd. 50), Arnold (Virch. Arch., Bd. 157), Rosin (Deutsche med. Woch. 1898), L. Michaelis (Arch. mikr. Anat., 1900, Bd. 50), Beitmann (Münch. med. Woch. 1900), Rothberger (Centr. Bakt., Bd. 24), Scheffler (Centr. Bakt., 1900), Rosin und Bibergeil (Deutsche med. Woch. 1902), Bibergeil, (Arch. Dermat. 1902).

H. Rosin.

Neuviktoriagrün, Syn. für Malachitgrün (Ludwigshafen). Von Lavdowsky in Verbindung mit Jodsäure (siehe dort) zur Blutfärbung benutzt.

Nicholson's Blau, Syn. für Alkaliblau.

Nickelsalze leiten sich vom Nickelmonoxyd Ni O ab und sind wasserfrei gelb, wasserhaltig grün gefärbt. Die Lösungen der Salze haben schwach saure Reaktion.

Das Nickelsulfat $NiSO_4$ stellt ein blaues oder grünlich gefärbtes Salz dar, von dem in 100 Theilen Wasser bei 16° 37, bei 50° 52, bei 70° 62 Theile löslich sind. Nickelsulfat bildet mit Natrium- und Kaliumsulfat rothe, krystallisirende Doppelsalze, die in Wasser ziemlich leicht löslich sind.

Deshalb benutzt Schimper das Nickelsulfat zum Nachweis des Natrium- und Kaliumsulfat in den Pflanzen. Weitere Verwendung haben die Nickelsalze durch Bolton gefunden, der bei seiner Modifikation der Weigert-Pal'schen Methode in Formol härtet, mit dem Gefriermikrotom schneidet, dann beizt, und zwar u. a. auch mit einer Lösung von Nickelsalzen, endlich mit

Kultzschitzky's saurem Hämatoxylin färbt. Die Differenzirung wird nach Pal vorgenommen.

Litteratur: Bolton (Journ. Anat. Physiol., Bd. 32 u. 33, 1898 u. 1899), Schimper (Flora 1890). *Mosse*, Berlin.

Nicol'sches Prisma siehe Polarisationsmikroskop.

Niere. Das Epithel der Nierenkanälchen gehört mit zu den am schwierigsten zu fixirenden Geweben, besonders gilt das von den Epithelzellen der Tubuli contorti. In einem gut fixirten Präparat der Niere müssen die Glomeruli ihre Kapsel fast ganz ausfüllen und die Lumina der Harnkanälchen sollen völlig frei von Eiweisstropfen sein. Man soll deshalb, um ein rasches Eindringen der Fixationslösungen zu erreichen, nur recht kleine Stückchen einlegen oder, was sich mehr empfiehlt, die Fixationslösung durch die Gefässe injiciren. Besonders bei letzterer Methode gelingt es selbst mit sonst weniger leistungsfähigen Fixativen, wie z. B. absolutem Alkohol, doch noch tadellose Resultate zu erzielen.

Im allgemeinen geben die Nieren kleiner Säuger bessere Resultate als die grosser Thiere. Für Stäbchenstruktur der Zellen der Tubuli contorti empfiehlt sich besonders die Niere der Ratte und des Igels. Der Uebergang des Kapselepithels in das Epithel des Tubulus contortus ist besonders leicht an der Mäuseniere zu demonstriren (Benda). Bei vielen Thieren wirkt das in den Epithelzellen der Harnkanälchen sich massenhaft findende Fett störend (Katze).

Als Fixationsmittel sind von verschiedenen Seiten die verschiedensten Reagentien empfohlen worden. R. Heidenhain injicirt die Niere von der Arterie aus mit Alkohol oder legt kleine Stückchen für 24 Stunden in eine 5%ige wässerige Lösung von neutralem chromsaurem Ammoniak, dann in Wasser auswaschen, bis die Stücke farblos sind, und entwässern. Oder er injicirt zur Demonstration der Stäbchenstruktur zunächst eine kalt gesättigte Lösung von Chlorkalium und überträgt dann in Alkohol. Die Flemming'sche Flüssigkeit wird von Kruse (in der Fol'schen Modifikation), Nicolas, Disse, Théohari und anderen bevorzugt. Tornier fixirt in auf 50° erwärmtem koncentrirtem Sublimat, Rühle in Zenker. Sauer vor allem in Carnoy, Alkohol-Salpetersäure (90% Alkohol mit 10% koncentrirter Salpetersäure), Perényi- oder Pikrinsalpetersäure. Er legt mit Recht auf sehr sorgfältige Einbettung grosses Gewicht. Nach unseren Erfahrungen giebt neben Carnoy die Injektion mit körperwarmer Zenker'scher Flüssigkeit die besten Resultate.

Zur Darstellung der Harnkügelchen bei Vögeln, Reptilien und Wirbellosen eignet sich neben dem absoluten Alkohol nur noch das Carnoy'sche Gemisch, da alle anderen Fixationsmittel die Kügelchen ganz oder theilweise lösen (Schoppe).

Zur Darstellung der von Klein entdeckten und in ihrer Bedeutung viel diskutirten Bürstensäume empfiehlt sich vor allem Eisenhämatoxylin mit Nachfärbung in Rubin S. Schmaus empfiehlt zu dem gleichen Zweck sein Urankarmin.

Um starke Sekretion in der Niere zu erzeugen, spritzt man dem Versuchsthier am besten 5%ige Kochsalzlösung intravenös ein (Limbeck) oder auch Harnstoff- oder Zuckerlösungen. Natürlich kann auch der Cl. Bernard-sche Zuckerstich in Frage kommen.

Zur Maceration der Harnkanälchen eignet sich besonders gut die koncentrirte Salpetersäure (der Pharmakopoe); kleine Stückchen bleiben darin mehrere Stunden und werden dann in verdünntes Glycerin übertragen. Auch koncentrirte Salzsäure, 33%ige Natronlauge, 5%iges molybdänsaures Ammoniak. 5%iges chromsaures Ammoniak leisten gute Dienste. (Näheres siehe Maceration.)

Die Injektion der Harnkanälchen gelingt leicht vom Ureter aus mit Berlinerblau. Ebenso schöne Resultate erhält man mittels der physiologischen Injektion (siehe dort).

Litteratur: Benda (Anat. Anz., Bd. 2, 1887), R. Heidenhain (Arch. mikr. Anat., Bd. 10, 1874), Kruse (Virchow's Arch., Bd. 109, 1887), Nicolas (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 8, 1891), Disse (Anat. Hefte, Bd. 2, 1893), Théohari (Journ. de l'anat. physiol., Bd. 36, 1900), Tornier (Arch. mikr. Anat., Bd. 27, 1886), Rühle (Arch. Anat, 1897), Sauer (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), Klein (Quart. Journ. micr. Sc., 1881), Schoppe (Anat. Hefte, 23, 1897), Schmaus (Münch. med. Woch., 1891), Limbeck (Arch. exper. Path. Pharm., Bd. 25, 1889).

Nigranilin, Syn. für Anilinschwarz.

Nigrosin. Man versteht unter Nigrosinen die aus Nitrobenzol oder Nitrophenol hergestellten Induline. Sie besitzen im Gegensatz zu jenen eine mehr grauschwarze Farbe. Sie sind in Wasser unlöslich, in Alkohol löslich. Die Reaktionen sind dieselben wie die der Induline. Durch Behandlung mit koncentrirter Schwefelsäure gehen sie in die entsprechenden Sulfosäuren über, deren Natriumsalze die wasserlöslichen Nigrosine des Handels darstellen (Berlin, Geigy).

In der Mikrotechnik haben sich die ausschliesslich benutzten wasserlöslichen Nigrosine ein gewisses Renommée als Färbungsmittel für das centrale Nervensystem verschafft. Sie färben die Zellkörper, nicht aber die Fasern. Rabl-Rückhard färbt 12 Stunden in ganz dünner wässeriger Lösung, Martinotti benutzt eine koncentrirte Lösung von Nigrosin in koncentrirter wässeriger Pikrinsäure, färbt mehrere Stunden bis Tage und differenzirt in Ameisensäure, die mit 2 Theilen Alkohol verdünnt ist. Spaink empfiehlt für Flemmingpräparate eine Kombination von Nigrosin und Safranin. Er stellt sich von jedem der beiden Farbstoffe eine Lösung her, die 1 Grm. Farbstoff in 100 Grm. Wasser und 200 Grm. absoluten Alkohols enthält, und mischt 3 Theile Nigrosin- 1 Theil Safraninlösung mit 1 Theil absoluten Alkohols. Totalfärbung der Nerven mehrere Tage, dann absoluter Alkohol, Cedernöl. Balsam.

Jarotzky färbt Pankreasschnitte nach Sublimatfixation zuerst 1—2 Minuten in Böhmer'schem Hämatoxylin, wäscht dann in 1%iger Alaunlösung und Wasser aus, färbt einige Stunden in 1‰iger wässeriger Nigrosinlösung, spült mit Wasser ab und überträgt in alkoholisches Eosin (1 Grm. Eosin spritlösl., 120 Grm. absoluten Alkohol, 280 Grm. Wasser). Darauf wird sorgfältig in absoluten Alkohol ausgewaschen und 5 Minuten in alkoholisches Safranin übertragen (1 Grm. Safranin, 60 Grm. absoluten Alkohols, 140 Grm. Wasser) und schliesslich in Alkohol so lange differenzirt, bis die blaue Farbe wieder hervortritt.

Pikronigrosin (10 Ccm. 1%iger wässeriger Nigrosin- und 90 Ccm. koncentrirter wässeriger Pikrinsäure) ist auch von Freeborn zur Färbung des Bindegewebes empfohlen worden.

Kossinski färbt Präparate von Geschwülsten, die in Sublimat oder Alkohol fixirt waren, zuerst 3—5 Minuten in 1‰igem wässerigen Nigrosin, auswaschen in Wasser, dann für 20—30 Minuten in 0,5%iges, schwach alkoholisches Safranin, auswaschen in Alkohol, eventuell noch in Nelkenöl differenziren, Balsam.

Literatur: Rabl-Rückhard (Arch. Anat., 1883), Martinotti (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), Spaink (Unters. Naturl. Mensch., Bd. 14, 1891), Jarotzky (Virch. Arch., Bd. 156, 1899), Freeborn (Amer. Month. micr. Journ., Bd. 9, 1888), Kossinski (Wratsch, 1888).

Nikotin findet sich in den verschiedenen Tabakarten an Apfelsäure und Citronensäure gebunden, es ist eine starke Base und stellt eine farblose, an der Luft sich braun färbende Flüssigkeit dar. Es löst sich in Wasser und Alkohol, die wässerige Lösung reagirt stark alkalisch.

Das Nikotin kann in der Mikrotechnik zur Anregung der Speichelsekretion Verwendung finden, es ruft ziemlich starken Speichelfluss hervor. Für einen Hund genügen 2—3 Ccm. einer 0,5 %igen Lösung.

Ausserdem wird es für Wirbellose als Narkotikum vielfach benutzt, entweder indem man dem die Thiere enthaltenden Wasser geringe Mengen einer schwachen Nikotinlösung zusetzt oder indem man die Thiere unter eine Glocke mit Tabaksdampf bringt. Vor allem für Cölenteraten von Vortheil.

Vergl. auch den Artikel Alkaloide.

Nilblau, Oxazinfarbstoff, der durch Einwirkung von salzsaurem Nitrosodiäthyl-m-amidophenol auf α-Naphtylamin entsteht. Grünes Pulver, das in Wasser schwer, leichter in Alkohol mit blauer Farbe löslich ist. Die wässerige Lösung giebt mit Salzsäure einen violetten, mit Natronlauge einen rothen Niederschlag. In Schwefelsäure mit gelber Farbe löslich.

Das Nilblau ist von Loisel und Fischel zur vitalen Färbung empfohlen worden. (Näheres s. pag. 354.)

Nitella, vergl. Characeen, Plasmaströmung und Algen, Kultur derselben.

Nitrate werden in Pflanzenzellen nachgewiesen durch Blaufärbung (Anilinblau) mit Diphenylamin 0,01—0,1 Grm. in 10 Ccm. koncentrirter Schwefelsäure. Die Reaktion ist hier eindeutig, da Nitrite ebensowenig wie Mangansuperoxyd, chromsaures Kali, Wasserstoffsuperoxyd, Eisenoxyd etc. in der Pflanze vorkommen; resp. wurde festgestellt, dass nitratfrei erzogene Pflanzen nie eine Blaufärbung geben. — Andererseits kann aber bei Anwesenheit reichlicher Mengen von Nitraten durch verschiedene andere Stoffe, z. B. von Huminstoffen, die durch Einwirkung der Schwefelsäure auf verholzte Membranen entstehen, das Eintreten der Reaktion verhindert werden. — Die Reaktion geschieht am besten auf etwas angetrockneten Schnitten (Schimper). Durch die gleiche Reaktion werden auch die dem Asparagin (s. dieses) ähnlichen rhombischen Krystalle des Kalinitrats von jenen unterschieden. Die Feinheit der Anilinblaureaktion gestattet auch bei in nitratreichen Medien gezogenen Pflanzen den Ort der Nährstoffaufnahme in der Pflanze scharf zu identificiren (Kny).

Litteratur: Schimper (Flora 1890), Kny (Ber. deutsch. bot. Ges., Bd. 16, 1898).

Magnus, Berlin.

Noir Colin, Syn. für Anilinschwarz.

Nostoc siehe Cyanophycäen.

Nucin siehe Chrysophansäure.

Nukleïn, Nukleïnsäure, Nukleoproteïne siehe Zellchemie.

O.

Objekttisch siehe Mikroskop.

Objekttisch, heizbarer siehe Lebendes Objekt, Beobachtung desselben.

Objektive siehe Mikroskop.

Objektivmikrometer siehe Mikrometer.

Objektträger siehe Deckgläser.

Oedematin siehe Zellchemie.

Ohr siehe Gehörorgan.

Okular siehe Mikroskop.

Okularmikrometer siehe Mikrometer.

Oelbildner siehe Oele, pflanzliche.

Oele, pflanzliche. Die pflanzlichen Oele sondern sich in zwei Gruppen: sie sind einerseits Glycerinesther von Fettsäuren ($C_n H_{2n} + CO_2 H$), fette Oele und nahestehend Wachs und andererseits ätherische Oele [Terpene ($C_{10} H_{16}$) oder deren Abkömmlinge] nebst Harzen. Beide sind löslich in Aether und Chloroform, heissem Alkohol, ätherischen Oelen (Nelkenöl), die fetten unlöslich in kleineren Mengen von Alkohol, Eisessig und wässeriger Chloralhydratlösung 5 : 2 (mit Ausnahme des Ricinusöls), die ätherischen in ihnen meistens leicht löslich. Dies Verhalten ist die unterscheidende Hauptreaktion zwischen fetten Oelen (z. B. des Leinsamens) und ätherischen Oelen (z. B. Oel in der Orangenschale). Charakteristisch für beide ist eine braunrothe Färbung in Alkannatinktur, Färbung ca. 6 Stunden, schneller beim Erwärmen. Darstellung: Käufliches Alkannin gelöst in absolutem Alkohol und gleichem Volumen Wasser, filtrirt. (Wachs giebt beim Erwärmen in Alkannatinktur rothe Tropfen.*) 1%ige Osmiumsäure wird reducirt und färbt braun bis schwarz, sie ist wieder entfärbbar durch Wasserstoffsuperoxyd erwärmtes Terpentinöl, Xylol u. s. w. Eine Reihe anderer Stoffe, zumal Gerbsäure, verhält sich gegen Osmiumsäure ebenso, letztere kann zum Unterschied eventuell entfernt werden durch Auskochen mit Wasser. Harze werden ausser mit Alkannin nach der sogenannten Unverdorben-Frankimont'schen Reaktion mit Kupferacetat (koncentrirte wässerige Lösung), in grösseren Stücken

* Ueber das wahrscheinlich sehr verwendbare Prodigiosin stehen noch nähere Versuche aus; s. Zellmembranen, pflanzliche (Verkorkung).

etwa 6 Tage lang, behandelt und sind dann smaragdgrün. Sie sind in 50%igem Alkohol zu konserviren und behalten in Glyceringelatine ihre Farbe. Die Bildung der Oele fällt manchmal gewissen plasmatischen Differenzirungen, Oelbildnern, Elaioplasten zu (etwa Fruchtknoten von Ornithogalum). Die Färbung geschieht auch hier mit Alkannin, doch hat zweckmässig eine Fixirung in 1%iger Essigsäure voranzugehen, resp. man lässt gleichzeitig eine Mischung von Alkannalösung, 1%iger Essigsäure, 50%igem Alkohol mit Jodgrün einwirken. Das Präparat kann in Glyceringelatine aufbewahrt werden. Oder sie können auch mit 1%iger Osmiumsäure fixirt und in Kanadabalsam, eventuell nach kurzer Färbung in Methylviolett, eingeschlossen werden. Auch wässerige koncentrirte Pikrinlösung wird empfohlen.

Litteratur: Zimmermann (Beiträge z. Morph. u. Phys. d. Pflanzenzelle, Tübingen 1893, I, 3, pag. 185, und Bot. Mikrotechnik, 1893). *Magnus*, Berlin.

Oelfarben zum Injiciren siehe Injektion.

Oelsäure, Oleïnsäure, $C_{18}H_{34}O_2$, bei gewöhnlicher Temperatur flüssig, ist farb- und geruchlos und schmilzt bei + 14°. In der Kälte erstarrt sie zu weissen Nadeln.

Oelsäure wird durch Osmiumsäure geschwärzt, d. h. die Osmiumsäure durch Oelsäure reducirt. Im Gegensatz zur Palmitin- und Stearinsäure findet diese Reduktion primär (direkt) statt, wie Starke (siehe den Artikel Fett) gefunden hat, und wie es von Handwerk bestätigt worden ist.

Litteratur: Siehe Fett. Ferner Handwerk (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898). *Mosse*, Berlin.

Oesophagus. Den Oesophagus kleinerer Thiere kann man in toto am besten durch Injektion der Fixationslösung in das Lumen fixiren. Man bindet dann an beiden Enden ab und hängt das herausgeschnittene Organ in ein grösseres Quantum der Lösung. Bei grösseren Thieren und beim Menschen steckt man besser einzelne Stücke des aufgeschnittenen Organs auf Wachsplatten auf und legt in die Fixationslösung ein.

Zur Fixation empfehlen sich absoluter Alkohol, Sublimat, Zenker'sche Flüssigkeit, Pikrinsublimatessigsäure und andere mehr. Rubeli fixirt in absolutem Alkohol, dem er etwas Methylgrün zusetzt, färbt in Boraxkarmin durch und bringt dann nach Differenzirung in Salzsäurealkohol in Jodgrünlösung.

Zur Färbung empfiehlt sich vor allem die van Gieson-Färbung, die Calleja-sche Färbung und die verschiedenen Methoden zur Schleimfärbung. Nach Garnier soll die Schlundmuskulatur von Testudo graeca besonders schön die Zellbrücken zeigen.

Litteratur: Rubeli (Arch. wiss. prakt. Thierheilk., Bd. 16, 1890), Garnier (Journ. de l'anat. phys., Jg. 33. 1897).

Olivenöl, Oleum olivarum, Baumöl, Provenceröl, aus den Früchten des Oelbaumes durch Auspressen gewonnen. Blassgelbes Oel, das hauptsächlich aus Trioleïn und Glycerinäthern der Palmitin- und Arachinsäure besteht. Spec. Gew. 0,91 bei 17,5°. Brechungsindex 1,473. In Alkohol ist das Olivenöl nur wenig löslich, leicht löslich dagegen in Aether, Schwefelkohlenstoff und Petroleumäther.

Das Olivenöl ist von Altmann zur Injektion mit nachfolgender Osmiumbehandlung und Korrosion empfohlen worden (Näheres siehe pag. 603).

Opalblau, Syn. für spirituslösliches Anilinblau.

Opticus siehe Sehorgan.

Orange I, Syn. α Naphtolorange, Tropaeolin 000 Nr. 1 (Höchst, Elberfeld) $(SO_3Na)C_6H_4 . N : N . C_{10}H_6(OH)$ entsteht durch Einwirkung von

Sulfanilsäure auf α-Naphtol. Rothbraunes, in Wasser leicht lösliches Pulver. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure braun, mit Natronlauge kirschroth. In Schwefelsäure ist es mit rothvioletter Farbe löslich.

Orange II, Syn. β-Naphtolorange, Säureorange, Mandarin G extra, Tropaeolin 000 Nr. 2 (Ludwigshafen, Höchst) $(SO_3 Na) C_6 H_4 . N : N . C_{10} H_6 . OH$ entsteht durch Einwirkung von Sulfanilsäure auf β-Naphtol. Es hat eine mehr gelbrothe Farbe als das vorige, sonst aber ziemlich dieselben Eigenschaften.

Orange III, Azofarbstoff französischer Provenienz, der dem Orange G nahesteht.

Orange G, Syn. Patentorange, $C_6 H_5 . N : N . C_{10} H_4 (O H) (SO_3 Na)_2$ (Berlin, Ludwigshafen, Höchst). Dieser für die Mikrotechnik wichtigste aller Azofarbstoffe wird erhalten durch Einwirkung von Anilin auf β-Naphtol-γ-disulfosäure. Er stellt ein gelbrothes, in Wasser leicht (ca. 8%), in Alkohol schwerer lösliches Pulver dar. Die wässerige Lösung bleibt bei Zusatz von Salzsäure unverändert, mit Natronlauge färbt sie sich mehr gelblich. In Schwefelsäure ist der Farbstoff mit orangegelber Farbe löslich. Er giebt im sauren Bade ausserordentlich lichtechte Wollfärbung.

Das Orange G ist einer der besten und wichtigsten Protoplasmafarbstoffe (am besten erwies sich ein aus der Berliner Anilinfabrik bezogenes Präparat), der eine ausserordentlich scharfe und präcise Nachfärbung für alle blauen und grünen Kernfärbungen liefert, aber auch nach Karminfärbungen sehr wohl zu brauchen ist. Man färbt entweder in einer dünnen wässerigen oder schwach alkoholischen Lösung. Bei einem guten Farbstoff genügen wenige Minuten. Sehr vortheilhaft ist es, die Lösung mit etwas Salzsäure anzusäuern, man muss aber dann wieder gut neutralisiren. Born bringt zu diesem Zwecke auf den Boden des Alkoholglases Schlemmkreide und bedeckt dieselbe mit Filtrirpapier. Auch für Eisenhämatoxylin bildet das Orange ein vorzügliches Nachfärbungsmittel. Man kann nach Born die zum Differenziren benutzte Eisenalaunlösung gleich mit etwas Orange versetzen, muss aber dann gut in fliessendem Wasser auswaschen.

Orange hat als specifisch saurer Farbstoff auch vielfach Verwendung zum Differenziren von Kernfärbungen gefunden. Bekannt ist seine Anwendung in der Flemming'schen Dreifachbehandlung. Kaiser differenzirt Safraninpräparate in alkoholischer Orangelösung, ganz ebenso kann man Gentianaviolett behandeln.

Orange G ist ferner in einer grossen Anzahl von Doppel- und Dreifachfärbungen enthalten, wie Anilinblau-Säurefuchsin-Orange (Mallory), Methylgrün-Säurefuchsin-Orange (Ehrlich-Biondi) und andere. Besonders empfiehlt sich hier die Kombination von Orange und Säurefuchsin auch zur Nachfärbung von Hämatoxylinpräparaten.

Orange extra, Syn. für Orange II (Casella).

Orange M N, Syn. für Metanilgelb.

Orceïn ($C_7 H_7 NO_3$?) entsteht aus dem Orcin durch die gleichzeitige Einwirkung von Luft und Ammoniak. Es ist ein braunes, amorphes Pulver, das sich in Alkalien violett löst und durch Säuren wieder gefällt wird. (Das Orcin, $C_6 H_3 CH_3 (OH)_2$, wird aus den Flechten Lecanora, Rocella etc. gewonnen, indem man diese unter Zusatz von Ammoniak oder faulendem Harn an der Luft gähren lässt und dann entweder pulvert oder auf Extrakt verarbeitet; diese beiden Rohprodukte gehen unter dem Namen Orseille.)

Nach Israel vereinigt das Orceïn die Eigenschaften eines sauren und eines basischen Farbstoffs; er färbt die Schnitte mit einer Lösung von

1 Grm. in 50 Ccm. Wasser und 1 Grm. Eisessig, wäscht sie in Wasser, bringt sie rasch durch absoluten Alkohol in dickes Cedernöl und bewahrt sie darin auf. Kerne blau, Plasma roth. — HEIMANN färbt Ganglienzellen mit einer »nach Analogie des DELAFIELD'schen Hämatoxylin« bereiteten Lösung. MOLL verwendet die Lösung von TÄNZER (Orceïn von GRÜBLER 1 Grm. Alk. abs. 80, Wasser 40 Ccm., Salzsäure von 25% H Cl 40 Tropfen) zur Tinktion von Celloidinschnitten durch Embryonen (6—24 Stunden lang, dann Alkohol von 90, von 98%, Oel, Balsam) und erhält den als Knorpel präformirten Knochen blau, alles übrige roth gefärbt.

Ueber die Methoden zur Färbung des elastischen Gewebes mit Orceïn siehe bei Elastin.

Mayer, Neapel.

Orcellin Nr. 4, Syn. für Echtroth.

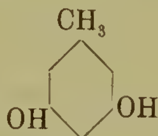
Orcin siehe Orseille.

Origanumöl, Oleum Origani cretici, wird durch Destillation des in Südeuropa und Kleinasien wachsenden Origanum hirtum oder creticum gewonnen und stellt ein dünnflüssiges, rothgelbes Oel vom spec. Gew. 0,92 dar. Es ist in Alkohol von 90% in jedem Verhältniss löslich. Sein Siedepunkt liegt bei 172°. Es löst sich leicht in Chloroform, Xylol, Ricinusöl etc. Celloidin wird von ihm nicht gelöst. Anilinfarben werden etwas ausgezogen. Auch Paraffin wird in der Wärme von ihm gelöst.

Das Origanumöl ist als Intermedium für Celloidinschnitte vielfach empfohlen worden und auch sehr brauchbar. Der Geruch ist auch auf die Dauer nicht unangenehm, der Preis allerdings ziemlich hoch (15—20 Mark pro Kilogramm). Auch als Intermedium für die Celloidin-Paraffineinbettung ist es empfohlen worden.

Orseille. Mit diesem Namen bezeichnet man einen Farbkörper, der in Form einer blau- oder rothvioletten Paste in den Handel kommt und besonders in Frankreich in grossem Massstab fabricirt wird. Es wird erhalten aus den verschiedensten Flechtenarten (Rocella, Variolaria, Lecanora, Usnea, Ramalina etc.), indem man durch Ammoniak und Kalk bei Luftzutritt aus ihnen den eigentlichen Farbstoff, das Orcin, entwickelt. Das letztere entsteht als Spaltungsprodukt der in jenen Flechten enthaltenen Flechtensäuren (Lecanorasäure, Erythrinsäure, Orsellinsäure etc.).

Das Orcin hat die Formel



es geht durch Oxydation bei Gegenwart von Ammoniak in das Orceïn über. Es krystallisirt in farblosen Prismen, die sich leicht in Wasser, Aether und Alkohol lösen. Mit Eisenchlorid färbt sich die Lösung blauviolett.

Von den verschiedenen Orseillepräparaten des Handels wäre zu erwähnen das Orseilleextrakt, ein wässeriger Auszug der Orseille, Persio, eine getrocknete und gemahlene Orseille und der Pourpre française, der durch Fällung der ammoniakalischen Lösung mittels Schwefelsäure, Weinsäure oder Chlorcalcium entsteht.

Orseille ist von WEDL zuerst in die Mikrotechnik eingeführt worden. Er lässt das französische Orseilleextrakt an der Luft stehen oder erhitzt es im Sandbad zur Vertreibung des Ammoniaks und giebt dann von demselben in eine Mischung von 20 Theilen absoluten Alkohols, 5 Theilen Essigsäure (spec. Gew. 1,07) und 40 Theilen Wasser soviel, dass eine dunkelrothe Flüssigkeit entsteht. In dieser Farblösung werden Schnitte aus MÜLLER-scher Flüssigkeit oder Chromsäure rasch gefärbt, die Farblösung abgesaugt

und in Lävulose eingeschlossen. Es färbt sich nicht der Kern, sondern das Protoplasma, Nervenzellen mit Ausläufern, Axencylinder, Zahnbeinfasern etc.

Litteratur: Wedl (Virchow's Arch., Bd. 74, 1878).

Orseillin B B. Brauner Disazofarbstoff, der in Wasser mit fuchsinrother Farbe löslich ist (Elberfeld). Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge gelb, mit Salzsäure rothviolett. In Schwefelsäure blaue Lösung, die beim Verdünnen mit Wasser roth wird.

Oscillarien siehe Cyanophycaeen.

Osmiamid hat Owsjannikow (Mélanges biol. tirés du Bull. de l'Acad. de St. Pétersb., Bd. 7) an Stelle der Osmiumsäure in die Technik eingeführt; dieser Verbindung fehlt der Geruch und die Reizung der Schleimhäute, die beim Gebrauch der Osmiumsäure belästigen.

Osmiumchlorid ist nach Eisen (Journ. Morph., Bd. 17, 1900, pag. 1—117, 54) in $^1/_2$—$^1/_{10}$%iger Lösung ein sehr werthvolles Fixationsmittel, das weniger intensiv schwärze als Osmiumsäure. Besonders in Verbindung mit Kaliumbichromat ergebe es gute Resultate.

Osmiumsäure, Ueberosmiumsäure, Ueberosmiumsäureanhydrid, Osmiumtetroxyd, OsO_4, wurde zuerst von Brauell 1849 benutzt und 1864 auf Veranlassung von F. E. Schulze durch Max Schultze in die mikroskopische Technik eingeführt; dieser lieferte kurze Zeit darauf in Gemeinschaft mit Rudneff eine systematische Zusammenstellung der durch Osmiumsäure darstellbaren Substanzen. Osmiumsäure als Fixationsmittel hat besonders F. E. Schulze erprobt und mit genauer Gebrauchsanweisung empfohlen. Die Geschichte dieser Entdeckung der Osmiumsäure für die Mikroskopie hat Merk auf Grund authentischer Mittheilungen von F. E. Schulze geschrieben.

Die Bezeichnung des Osmiumtetroxyds als »Osmiumsäure« entbehrt aller chemischen Berechtigung, da sie keinerlei saure Eigenschaften besitzt, weder Salze bildet, noch in Lösung sauer reagirt, zumal aber, weil in der That eine Osmiumsäure, allerdings nur in Form ihrer Salze von der Formel OsO_4Me_2, existirt. Die Bezeichnung »Osmiumsäure« hat sich indessen so eingebürgert, dass der Gleichmässigkeit halber sie auch hier beibehalten werden soll.

Osmiumsäure krystallisirt in farblosen Prismen und ist überaus flüchtig: die Dämpfe sind von stechendem Geruch und reizen alle Schleimhäute so stark, dass beim Arbeiten mit der Substanz oder der unbedeckt stehenden Lösung Vorsicht geboten ist.

Die gebräuchlichen Anwendungsformen sind die Osmiumsäurelösung und die Osmiumsäuredämpfe. Die Krystalle kommen in Glasröhrchen eingeschlossen in den Handel, die man sehr sauber reinigt, durch Anfeilen und durch Berühren der Feilstelle mit einem glühenden Glas- oder Eisenstäbchen eröffnet und mitsammt ihrem Inhalt in das Lösungsmittel bringt: für gewöhnliche Zwecke destillirtes Wasser, in dem sie sich reichlich, etwa bis zu 5%, aber nur sehr langsam lösen, daher man bis zur Verwendung mindestens einen Tag vergehen lassen muss. Stärkere Koncentrationen — bis zu 6% — erhält man nach Metzner in 0,6%iger Kochsalzlösung, während 15%ige Kochsalzlösung nur 4,5—5% Osmiumsäure aufzunehmen vermag.

Die Osmiumsäurelösungen bewahrt man vor Licht geschützt im Dunkeln auf, am besten in 2%iger Lösung in gefärbten Flaschen mit Glasstopfen, da Kork nur zu bald angegriffen wird und durch abbröckelnde Partikel die Lösung verschmutzt. Unter der Einwirkung des Lichtes, nach Lee und Mayer allerdings nur bei Gegenwart selbst von Spuren organischer Substanz (Staub), fällt aus der Lösung ein schwarzes Pulver aus, das von den Chemikern bald als metallisches Osmium, bald als Bioxyd (Merk), bald

als Osmiumtetrahydroxyd — $Os(OH)_4$ — ausgegeben wird; letzteres ist sicher unrichtig, da die Verbindung $Os(OH)_4$ nur mit den grössten Schwierigkeiten dargestellt werden kann. Die alkoholische Lösung lässt das Pulver noch schneller fallen, da der Alkohol die Reduktion beschleunigt.

Haltbare Lösungen gewinnt man nach CORI durch einen Zusatz von Kaliumpermanganat bis zur hellrosa Färbung der Flüssigkeit, der nach eingetretener Entfärbung zu erneuern ist. BUSCH empfiehlt einen Zusatz von jodsaurem Natrium in der dreifachen Menge der verwandten Osmiumsäure. LEE hält eine 2%ige Osmiumsäurelösung in 1%iger Chromsäure vorräthig, MAYER fügt zu 100 Ccm. einer 1%igen Lösung von Osmiumsäure zehn Tropfen 5%igen Sublimats nach einer im I. Wiener zoologischen Institut geübten Methode.

Unter »Regeneration alter Lösungen« versteht man die Verfahren, durch Zusätze das reducirte Osmium wieder zu oxydiren, wie z. B. BRISTOL mittels 10—20 Tropfen Wasserstoffsuperoxyds angiebt, oder durch Eintragen kleiner Quantitäten von Alaunpulver (KOLOSSOW) oder Kochsalz (MAYER) den Niederschlag zu Boden zu reissen: die Lösungen sind dann zwar schwächer osmiumsäurehältig, aber noch verwendbar.

Die Osmiumsäurelösung wird entweder für sich allein oder mit anderen Mitteln gemischt benutzt. Zur Fixation mit reiner Osmiumsäure dienen meist 0,5%ige oder 1%ige oder 2%ige Lösungen in destillirtem Wasser. Die von den einzelnen Autoren für besondere Zwecke angegebenen Stärkegrade schwanken zwischen $^1/_{40}$% (PETRONE nach NEGRI für Erythroblasten) und GEDOELST (für Nervenmark Osmiumsäure 1:600—2000) und dem grössten möglichen Stärkegrad von 5—6% (FABRE DOMERGUE für Infusorien; BÉLA HALLER für Nervensystem mariner Rhipidoglossen; PAULI für den Rindermagen; KUNSTLER für Flagellaten eine Lösung von 1 Grm. Osmiumsäure auf 4—5 Ccm. Aq. dest.). POUCHET ist besonders für die Verwendung solcher koncentrirter Lösungen zur Fixation dünner Membranen (Retina, Keimblätter u. s. w.) eingetreten. Nach EIMER giebt die 6%ige Osmiumsäurelösung keine wesentlich anderen Resultate als etwa schwache Koncentrationen, macht aber die Gewebe sehr brüchig; nach TELLYESNICKY fixirt Osmiumsäure noch in 0,1%iger Lösung gut, auch v. WASIELEWSKI giebt der 0,5%igen den Vorzug vor der 2%igen Lösung.

Die Fixation mit reiner Osmiumsäure muss aus den oben erwähnten Gründen im Dunkeln geschehen (FLEMMING). Da sie nur schwer in die Gewebe eindringt, wenn auch in der Regel tiefer als $^1/_2$ Mm. (BÖHM und OPPEL) innerhalb 24 Stunden, so wähle man die Objekte möglichst klein, nicht grösser als etwa 5 Cmm.: dünne Scheibchen der Organe können in den anderen Abmessungen etwas grösser sein. Sind die Stücke zu gross, so läuft man Gefahr, dass im Inneren schon kadaveröse Veränderungen eingetreten sind, ehe die Fixationsflüssigkeit wirksam wird; diese büsst ohnehin auf ihrem Wege mehr oder minder an Koncentration und damit an Fixationskraft ein, während anderseits das bereits fixirte Gewebe den weiteren Zutritt der Lösung erschwert. So beobachtet man häufig genug eine ungleichartige Wirkung in den äusseren und inneren Schichten des Objekts (DRÜNER, BRASS, O. SCHULTZE). Nach BOVERI fixirt Osmiumsäure nur gut, wenn eine 1—0,5%ige Lösung direkt mit dem Gewebe in Berührung kommt, im Innern erhält man sonst mehr die Wirkung des Wassers als der Osmiumsäure.

Nach der Grösse des Objekts ist die zur Fixation erforderliche Zeitdauer der Einwirkung eine ungemein verschiedene: einzelne Zellen (Blut) sind nach einigen Sekunden fixirt, LEWIS behandelt Gefrierschnitte 1 Minute lang mit $^1/_4$%iger Osmiumsäure. Für andere Zwecke lässt man sie viele Tage lang einwirken. Ein etwa 5 Cmm. grosses Objekt ist nach 48 Stunden sicher durchfixirt, doch lässt man die Stücke gern, besonders wenn man gleichmässige Osmiumfärbungen erzielen will, noch einen oder zwei Tage länger darin liegen. So behandelt KOPSCH Spinalknoten zur Darstellung des

Binnennetzes etwa 8 Tage lang mit 2%iger Osmiumsäure und ersetzt die durch Reduktion geschwärzte Lösung nöthigenfalls durch frische Flüssigkeit; längere Einwirkung bedingt vollkommene Schwärzung des Ganglienzellkörpers. PRENANT fixirt nur 1—2 Stunden in 1%iger Osmiumsäure (Hoden), da längerer Aufenthalt Veränderungen erzeuge. Stärkegrad und Zeitdauer verlangen bei der Osmiumsäure die mannigfaltigsten Abänderungen, wenn man das Optimum der Fixationswirkung erhalten will: dies gilt selbst für gleichartige Zellen nahestehender Thiere: z. B. für das Blut, für das die Osmiumsäure, sofern man nur Zeitdauer und Stärkegrad der Lösung richtig trifft, was z. B. für die Fische und Cyklostomen nach FLESCH noch nicht gelungen ist, das beste Konservirungsmittel bleibt (BIONDI, KNOLL).

Auch die Fixation in Lösungen steigender Koncentration ist mit Osmiumsäure versucht worden: CHAPEAUX behandelt Polypen 30 Stunden mit 0,1%iger, dann 15 Stunden mit 1%iger, dann einige Stunden mit 2%iger Osmiumsäurelösung und erzielt so ausser der Fixation auch eine gelbbraune Plasmafärbung.

Um dem schweren Eindringen der Osmiumsäure und seiner Gemische abzuhelfen, ohne gezwungen zu sein, mit sehr unübersichtlichen kleinen Stückchen zu arbeiten, kann man zur Injektion der Lösungen greifen.

So injicirt PREUSSE in die Submukosa des Jejunum beim Studium der Fettresorption $^1/_5$%ige Osmiumsäure, füllt das Darmstück mit der gleichen Flüssigkeit und legt es ausserdem ganz und gar in $^1/_{20}$%ige Osmiumsäurelösung hinein. FERRI spritzt zum Studium der im Felsenbein gelegenen Ganglien des Acusticus 1%ige Osmiumsäure in die Pars petrosa hinein. RANVIER injicirt in den Panniculus adiposus $^1/_2$- oder 1%ige Osmiumsäure zum Studium der Schweissdrüsen. POLJAKOFF injicirt zur Oedembildung nach RANVIER statt dessen Kochsalzlösung, 0,1—0,3%ige Osmiumsäure. IWANZOFF fixirt die so schwer zu konservirenden elektrischen Organe von Torpedo durch interstitielle Injektion 1%iger Osmiumsäure und bringt sie nach einigen Minuten in 2%iges Kaliumbichromat.

Abänderungen dieser Normalmethode für einzelne Objekte sind bei diesen angegeben: für Seethiere verwendet man im allgemeinen als Lösungsmittel für Osmiumsäure Seewasser (MINCHIN für Kalkschwämme, LO BIANCO für Akanthometren und Aulakanthen), RUSSO setzt zu den im Seewasser befindlichen Ophiotrichen $^1/_2$%ige Osmiumsäure tropfenweise und schliesslich die doppelte Menge an Lösung hinzu. WHITMAN tödtet pelagische Fischeier durch 5—10 Minuten lange Wirkung von gleichen Theilen Seewasser und $^1/_2$%iger Osmiumsäure und fixirt sie darauf mit der EISIG'schen Modifikation des MERKEL'schen Gemisches (siehe pag. 139).

Bei der Osmiumsäureräucherung benutzt man die Dämpfe, die vermöge der Flüchtigkeit der Osmiumsäure schon bei gewöhnlicher Temperatur, noch stärker bei gelinder Erwärmung sowohl von den Krystallen selbst, als von den reinen oder mit anderen Mitteln vermischten Lösungen ausgestossen werden: dabei kommen die Objekte nicht mit der Flüssigkeit in Berührung, und man braucht auf Fortschaffung eines Ueberschusses des Mittels wie bei der Fixation mit Lösungen nicht ängstlich bedacht zu sein. Ferner dringt der Dampf leichter in die Tiefe, wirkt ausserordentlich gleichmässig (FOL) und setzt keine Veränderungen durch Osmose (LEE und MAYER). Bei der Räucherung kommt nach FISCHER die der Osmiumsäure specifisch eigene Wirkung der Formerhaltung ohne Fällung zur Geltung, durch eine Art »Erstickung«, d. h. einer blitzartig schnellen Tödtung durch Anhäufung von Oxydationsprodukten, die sich beim Zusammentreffen der Osmiumsäure-Dampf-Molekel mit dem Wasser des Gewebesaftes und des Protoplasmas bilden. Grössere Objekte, Augen, hängt man in eine Flasche oder, falls man erwärmen will, in ein Reagensgläschen hinein, die einige Krystalle (KOESTLER) oder die Osmiumsäurelösung enthalten, so dass direkte Berührung vermieden wird. Membranen kann man auf einen Kork aufspannen und mit diesem das Gefäss verschliessen. Einzelne Zellen bringt man auf einen Objektträger, den man umkehrt und auf die Flasche legt.

Will man z. B. bei Leukocyten, Amöben, einzelnen kleinen Theilen anderer Art den Fixationsprocess unter dem Mikroskop beobachten, so kann man mit Vortheil eine kleine, auf einen Objektträger mit KRÖNIG'schem Lack aufgekittete Glaszelle benutzen, wie man sie zur Aufbewahrung von Totalpräparaten von Froscheiern oder Keimscheiben verwendet.

Auf den Boden bringt man einen Krystall oder einige Tropfen der Lösung, feuchtet den Rand mit etwas Wasser an und bedeckt die Zelle mit einem Deckgläschen, auf das man das Blut oder die Flüssigkeit mit den zu fixirenden Objekten gebracht hat, mit der Schichtseite nach unten. Man kann auf diese Weise z. B. eine Amöbe und ihre Bewegungen mit der Immersion beobachten und dann das Fixationsmittelkryställchen durch einen Spalt zwischen Deckglasrand und Glaszellenwand hineinfallen lassen. Andrews hat eine kleine Glaskammer angegeben, in der er die durch Hitze entwickelten Dämpfe ansammelt und in die er dann seine Objekte (Eier) hineinschiebt.

Was die Zeitdauer der Dampfeinwirkung anlangt, so genügen für einzelne Zellen wenige Sekunden, für grössere Objekte (Tritonauge Ranvier) 10 Minuten; man hat aber die Behandlung bis auf mehrere Stunden ausgedehnt. Der Stärkegrad der Lösung ist unerheblich, jedenfalls aber darf die Lösung nicht so schwach sein, dass sie nicht mehr riecht. Plötzliche Einwirkung sehr grosser Dampfmengen, die aber bei dem hohen Dampfdruck der üblichen Lösungen (Fischer) oft entbehrlich sind, erzielt man: 1. durch Verwendung sehr koncentrirter Lösungen zum Räuchern; so räuchert Kunstler Flagellaten mit einer gesättigten Lösung, die noch ungelöste Krystalle enthält; oder 2. durch Erwärmen, indem man z. B. die Kuppe des Reagensglases, das die Lösung enthält, in heisses Wasser taucht.

Abgesehen von der Unzahl der Empfehlungen der Osmiumsäuredampffixation für specielle Zwecke, ist sie für eine ganze Gruppe von Objekten geradezu die klassische Methode geworden: nämlich für alle sehr kleinen, natürlich oder künstlich isolirten, in einer natürlichen oder künstlich zugesetzten Flüssigkeit suspendirten Gebilde, wie einzelne Zellen und sehr kleine Zellenaggregate: so für die Protozoen (Kunstler, Bütschli, Eberlein, Certes), für mikroskopisch kleine Metazoen, für die zellenhaltigen Körperflüssigkeiten, das Blut (Pappenheim, Grassi e Feletti), im gesunden und kranken Zustande, das Sperma (Köhler, Ballowitz), den Eiter, Harn, das Sputum (Ritter), Exsudate, den Saft der Gewebe; für das Knochenmark (Jolly) und Ausstrichpräparate von anderen Organen; für die mit anderen Hilfsmitteln isolirten Zellen: z. B. mit vorausgehender oder folgender Behandlung mit Methylgrünessigsäure und dem Gemisch von Ripart und Petit (s. pag. 702) nach Carnoy, ein Verfahren, das Lee und Mayer als allgemeine Methode empfehlen.

Räucherung mit Gemischen von Osmiumsäure mit anderen Substanzen haben nur dann eine besondere Wirkung, wenn die übrigen Komponenten ebenfalls flüchtig sind. So empfiehlt Gilson, für Spermatogenesestudien ein Gemisch von Osmiumsäure mit Essigsäure in Dampfform zu verwenden.

Kombinirte Fixation durch Räucherung, dann durch die Lösung kann zuweilen mit Vortheil benutzt werden, und zwar wird entweder mit reiner Osmiumsäure oder Osmiumsäuregemischen oder mit anderen Fixationsmitteln nach der Räucherung nachbehandelt: solche Verfahren haben Ranvier und neuerdings Johnson für den Bulbus zur Retina-Präparation, Schuberg für Totalpräparate von Bursaria truncatella angegeben, welch letzterer nach der Räucherung auswäscht und dann erst die 1%ige Osmiumsäurelösung anwendet.

Die Nachbehandlung des Osmiumsäurepräparates ist eine ganz verschiedene, je nachdem das durch die Reduktion im Gewebe geschaffene Bild nur im Groben, für allgemeine Fixationszwecke, oder in allen Feinheiten erhalten, oder gänzlich beseitigt, oder endlich die Intensität der Osmiumfärbung noch gesteigert werden soll, um jede andere Färbung zu ersparen.

In allen Fällen muss aus den in der Osmiumlösung geschwärzten Stücken der Osmiumüberschuss aufs sorgfältigste entfernt werden, am besten durch Auswaschen in fliessendem Wasser während 24—48 Stunden; destillirtes Wasser ist für diesen Zweck meist entbehrlich. Nicht ausgewaschene Osmium-

reste sind der Färbung der Präparate im höchsten Grade hinderlich und machen diese durch die infolge der Reduktion auftretende Nachschwärzung schliesslich unbrauchbar; sie können auch, z. B. beim Studium von Fettverhältnissen, zu groben Irrthümern führen, auf die besonders HEIDENHAIN hingewiesen hat. O. HERTWIG bedient sich zur Verhinderung der Nachschwärzung des Jodserums (s. pag. 627) oder des Kaliumbichromates; MINCHIN des Pikrokarmins. Nach FOL kann man die schwärzende Wirkung der Osmiumsäure durch Eintauchen in Alkohol (!), in MÜLLER'sche Lösung, in BEALE's Karmin (siehe pag. 638) oder in alkoholisches Boraxkarmin verhindern. LEE und MAYER erwähnen für den gleichen Zweck das MERKEL'sche Gemisch (s. Chromsäure, pag. 139).

Will man mit Osmiumsäure fixirte Stücke nicht sogleich weiter bearbeiten, sondern einige Zeit aufbewahren, so kann das in 85%igem Alkohol geschehen. Ein Nachdunkeln vielleicht nicht vollständig ausgewaschener Präparate vermeidet man bei Anwendung einer Lösung von Kalium bichromat. (FLEMMING).

Nachbehandlung für gewöhnliche Zwecke. Nach gründlichem Auswaschen in fliessendem Wasser folgt die Entwässerung in steigendem Alkohol; dann bringt man die Objekte durch Aetheralkohol in Celloidin oder durch Xylol oder Chloroform in Paraffin.

Die beste Einbettungsmethode für feinere Untersuchungen (2 μ-Schnitte) ist die kombinirte Einbettung in Celloidin-Paraffin, da die oft beträchtliche und ungleichmässige Härte der Osmiumpräparate die Anfertigung feiner Schnitte bei gewöhnlicher Paraffineinbettung verhindert.

Sämmtliche Paraffinschnitte von Osmiumobjekten müssen, sofern man sie nicht ungefärbt einschliessen will, mit Eiweissglycerin und Wasser aufgeklebt werden, sonst lösen sie sich beim Uebertragen in Alkohol, Wasser oder Färbelösung unfehlbar vom Objektträger ab. Man kann auch nur mit Wasser aufgeklebte Schnitte schützen, indem man die Objektträger nach dem Weglösen des Paraffins mit Xylol in absoluten Alkohol, dann in Aetheralkohol bringt und in eine dünne Celloidinlösung eintaucht. Das sich meist stark mitfärbende Celloidin löst man nach beendigter Färbung in absolutem Alkohol und Aetheralkohol wieder auf.

In der Mehrzahl der Fälle kann man bei Osmiumpräparaten einer besonderen Färbung ganz entrathen, da durch die verschieden grosse Reduktionskraft der Gewebetheile diese in verschiedenen Farben erscheinen, vom hellen Graubraun des Cytoplasma bis zum tiefsten Schwarz des Fettes und der fettartigen Substanzen, und weil Kerne, Kerntheilungsfiguren, elastische Fasern, Erythrocyten ohneweiters gut sichtbar sind. Am besten eignen sich zur Kernfärbung Safranin, die Modifikation BIZZOZERO's der GRAM'schen Gentianaviolettmethode (pag. 430), FLEMMING's Dreifachfärbung (pag. 386). Tinktion mit Hämatoxylin oder Karmin stösst auch bei völlig ausgewaschenen Präparaten zuweilen auf Schwierigkeiten: FOL empfiehlt BEALE's Karmin oder Boraxkarmin, RENAUT hat besonders für Osmiumsäurepräparate ein Hämatoxylin ausgedacht. FLEMMING benutzt nach Osmiumsäurefixation sehr verdünntes Hämateïn (s. pag. 510). Zur Darstellung der Centrosomen an Osmiumpräparaten wiederholt VOM RATH dreimal die HEIDENHAIN'sche Färbemethode (s. pag. 517). Nach RUSKOW lässt sich nach Osmiumfixation das elastische Gewebe sehr intensiv mit Viktoriablau färben.

Um die Resistenz der Osmiumpräparate gegen die gewöhnlichen Kernfarbstoffe herabzumindern, sind besondere Beizen empfohlen worden; so erzielt DUBOSQ nach Beizung mit Alaunlösung gute Hämatoxylinkernfärbung. Hierher gehört auch die von vielen Seiten empfohlene nachträgliche Chromirung, deren entkalkende Nebenwirkung hier oft praktisch verwendbar wird (MAC BRIDE, s. u.).

Flemming benutzt 24stündige Behandlung mit Kaliumbichromat in Form der Müller-schen oder Erlitzki'schen Lösung oder mit 0,5%iger Chromsäure (s. a. Wisselingh, für das planzliche Objekt) oder mit Merkel's Gemisch, Fol empfiehlt Anwendung einer sehr schwachen Lösung des kohlensauren Ammoniaks oder des essigsauren Kali, Plate behandelt die mit 1%iger Osmiumsäure 10—15 Minuten fixirten Rotatorien nach gutem Auswaschen einen Tag mit 2%iger Lösung von chromsaurem Kali und färbt dann mit Karmin, Brauer wäscht Heterotrichen mit Pikrokarmin oder Beale's Karmin aus und behandelt sie mit 2%igem chromsauren Kali in filtrirtem Wasser, um sie durchsichtig zu machen. Unter erheblicher Verkürzung der Osmiumsäurebehandlung, die dann im Flemming'schen Sinne nur »zum raschen Abtödten« der Zellen dient, werden ebenfalls die Chromsalze angewandt: Schieffer-decker räuchert die Retina und die ganzen Augen kleiner Thiere mit Osmiumsäure und behandelt sie mit Müller'scher Lösung nach; Mac Bride fixirt Larven von Echinodermen (Amphiura) 10 Minuten lang mit 1%iger Osmiumsäure, spült sie mit Wasser ab, legt sie 18 bis 20 Stunden in Müller'sche Lösung oder pikrinsaures Ammoniak, dann in Alkohol und entkalkt nöthigenfalls mit alkoholischer Salpetersäure. Nagel empfiehlt für das menschliche Ei 1%ige Osmiumsäure mit drei Tage langer Nachbehandlung in Müller'scher Lösung, Iwanzoff injicirt ins elektrische Organ von Torpedo interstitiell 1%ige Osmiumsäure und fixirt weiter mit 2%igem Kaliumbichromat; ähnlich Rankin nach Injektion von schwacher Osmiumsäure ins Bojanus'sche Organ von Anodonta, weitere Fixation mit chromsaurem Ammoniak. Pfitzner hat gezeigt, dass bei Osmiumsäurefixation mit nachfolgender Behandlung mit Müller-scher Lösung das Protoplasma deutlich, der Kern homogen erscheint: das Achromatin sei undurchsichtig geworden und verdecke die Chromatinstruktur.

Die unverfälschte Erhaltung des Osmiumbildes der Zellen und Gewebe gewährleistet der Gefrierschnitt (Kingsbury) vom ausgewaschenen Objekt und Aufbewahrung der Schnitte in koncentrirter wässeriger Lösung von Kali aceticum nach der alten Angabe von Max Schultze. Bei der üblichen Vorbereitung der Stücke für das Mikrotom muss man stets mit der reducirenden und der lösenden Wirkung des Entwässerungsalkohols rechnen; z. B. ist Oelsäure auch im osmirten Zustande nach Altmann in Alkohol löslich. Noch eingreifender wirken indessen einige »Intermedien« (Paul Mayer), wie Terpentinöl (Deckhuyzen), besonders wenn es vorher stark von der Sonne beschienen — ozonisirt — war (Flemming); Aether (Paul Mayer), Kreosot (Paul Mayer, brieflich an Flemming), Bergamottöl, Nelkenöl, Xylol, Chloroform; diese Substanzen müssen alle für feinere Untersuchungen vermieden werden. Mahalanobis erklärt allerdings Xylol für die Konservirung des Fettes im Fischmuskel noch mit für das beste Mittel. Chloroform und Nelkenöl lösen osmirtes Fett nur schwer (Flemming), Cedernöl nach Nicolas, Benzin in der Kälte nach Handwerk und vor allem Petroleumäther nach Wlassak gar nicht; besonders der letztere ist als Ueberführungsmittel ins Paraffin geeignet, was auch Plecnik in neuester Zeit bestätigt findet.

Auch zum Einschluss solcher Präparate ist Xylol- und Terpentinbalsam (Flemming) zu vermeiden und Chloroformbalsam oder Kolophoniumbenzin nach Nissen oder nach Altmann Paraffinum liquidum zu benutzen; sonst verbreitet nach einiger Zeit jedes schwarze Kügelchen als untrügliches Zeichen der Lösung einen schwarzen Wolkenschleier um sich.

Bleichung. Andererseits kann man sich der aufgeführten Mittel bedienen, um die Osmiumsäureschwärzung einzelner leicht entfärbbarer Gewebetheile durch Auflösung zu beseitigen; auf diese Weise erhält man von osmirtem Fettgewebe die brillantesten Präparate durch Auflösen mit vorher stark besonntem Terpentinöl (Flemming). Zoja bleicht gebräunte Entodermzellen durch 6—8 Tage lange Xylolbehandlung; Kolster entfärbt osmirtes Myelin durch Terpentinöl; Cox durch Bergamottöl im Paraffinschnitt, eine nach Mayer unsichere Methode; dies gilt übrigens für manche Fettarten auch bei Anwendung der am stärksten lösenden Mittel.

Altmann sondert diese Weise der Osmiumentfernung durch Lösung der osmiumbindenden Substanz von der Reoxydation des unlöslich ausgefallenen reducirten Osmiums, das durch sie wieder in ungefärbte lösliche Verbindungen übergeführt wird. Beide Bleichmethoden wirkten in der Wärme kräftiger als bei Zimmertemperatur; beide können am Stück wie am auf-

geklebten Schnitt ausgeführt werden. Die letztgenannte ermöglicht in viel höherem Grade als jene erste Methode die Benutzung sonst für das Osmiumpräparat ganz unanwendbarer Färbungen (Biondifärbung, s. pag. 75). Nach ALTMANN vereinigen Nelkenöl und das ozonisirte Terpentinöl die lösende mit der oxydirenden Wirkung. Rein durch Reoxydation wirke das 2%ige Goldchlorid, das sogar die festeste aller Osmiumverbindungen, die osmirten Neutralfette, »elegant« zu entfärben gestatte. Nach LEE und MAYER verwendet APÁTHY das Goldchlorid für Schnittserien; MAYER ist von dem Erfolg nicht befriedigt.

Ausgedehnten Gebrauch findet die Oxydation mit nascirendem Sauerstoff. UNNA, SOLGER und OVERTON benutzen das Wasserstoffsuperoxyd; OVERTON eine 4—10%ige Lösung des käuflichen (5—10%igen) Wasserstoffsuperoxyds, in 70—90%igem Alkohol; er bemerkt, dass sich käufliche, mit Salzsäure schwach angesäuerte Lösungen im Dunkeln gut halten. Nach BRISTOL wirkt Wasserstoffsuperoxyd besser im Sonnenlicht. MAYER empfiehlt Oxydation mit nascirendem Sauerstoff, den er durch Einwirkung von Salzsäure auf Kaliumchlorat oder durch Behandlung von Magnesiumhyperoxyd mit Säure darstellt. Kaliumpermanganat verwendet BINET für Schnitte. Gleichfalls auf Oxydation beruht die Chlorbleichung. MAYER entwickelt nascirendes Chlor aus einigen Krystallen Kaliumchlorat und 2—3 Tropfen Salzsäure, übergiesst sie mit 50- oder 70%igem Alkohol und bringt die Stücke oder Schnitte aus Alkohol hinein; die Bleichung ist in $^1/_4$ Stunde bis zwei Tagen beendet. KUHN benutzt Aqua javelli zur Entfernung des osmirten Myelins.

Die bleichende, chemisch nicht genügend geklärte Wirkung der schwefeligen Säure wenden MOENCKEBERG und BETHE auf Osmiumpräparate an; aus Wasser kommen die Objekte in 2%ige Lösung von Natriumbisulfit, zu der man unmittelbar vorher auf 10 Ccm. 2—4 Tropfen koncentrirter Salzsäure gesetzt hat. CARAZZI bleicht Osmiumsäureobjekte, indem er zu einer kleinen Menge schwefligsauren Natriums 10%ige Essigsäure oder Weinsteinsäure fügt und behutsam 70%igen Alkohol überschichtet; in diesen wird das Stück hineingebracht. — Chemisch ebenfalls nicht klar ist die von KUHNT zur Entfernung des Myelins benutzte Wirkung schwacher Ammoniaklösung und der von FOL verwandten Bleichlösungen von rothem und gelbem Blutlaugensalz; MAYER hat nur mit dem ersteren Resultate erhalten, aber auch nur in wässeriger, nicht in alkoholischer Lösung. Die Eisenbeize zur BENDA-HEIDENHAIN'schen Färbung bleicht nach BENDA das Osmiumpräparat. Nach HEIDENHAIN scheinen auch Chromsalze bleichend zu wirken.

Die Bleichung der Osmiumpräparate kann auch zu dem Ende erfolgen, die das Osmium am festesten bindenden Substanzen allein gefärbt zu lassen, es aus allen leichter trennbaren Verbindungen aber zu entfernen; diese partielle Bleichung ist somit eine Differenzirungsmethode.

PAL erhält auf diese Weise eine isolirte Markscheidenfärbung: er oxydirt Schnitte von sechs bis vier Tage lang mit oft gewechselter 1%iger Osmiumsäurelösung fixirten Stücken des Centralnervensystems in 0,25%igem Kaliumpermanganat 10—15 Sekunden und beseitigt das gebildete Manganhyperoxyd durch seine Oxalsäuremischung; nur das Myelin hält das Osmium fest; alle übrigen Gewebetheile werden entfärbt. Auf einem ähnlichen Vorgange beruht die von EXNER benutzte Differenzirung mit Ammoniak, die auch BELLONCI angewendet hat: mit $^1/_2$—1%iger Osmiumsäurelösung bis zu 20 Stunden fixirte Stücke werden in 70%igen Alkohol gebracht, aus freier Hand geschnitten, mit Aqua destillata, Alkohol, wieder mit Aqua destillata behandelt und unter Deckglas mit Ammoniak durchsichtig gemacht, mit Wasser ausgewaschen und in Glycerin eingeschlossen.

An Osmiumsäurepräparaten kann man ohne Anwendung von Farbmitteln gute Kern- und Plasmafärbungen erzielen, wenn man in der Nachbehandlung zur Steigerung der schon vorhandenen Farbenintensität ein Reduktionsmittel einschaltet: als solches wirkt, meist im Stillen und unbeachtet, schon der zum Entwässern benutzte Alkohol; einzelne Fette

werden, wie FLEMMING zeigt, in Osmiumsäure nur graubraun, erst im Alkohol schwarz. Oxalsäurehältiger Alkohol (STEFANOWSKA) und Methylalkohol, den KORSCHELT nach v. MÄHRENTHAL auf abgespülte Flemmingpräparate 15 bis 30 Minuten wirken liess, zeigen die Reduktionswirkung etwas stärker. Viel intensiver aber steigern einige aromatische Alkohole und ihre Derivate die Intensität des Osmiumbildes, entsprechend der grösseren Reduktionskraft: so Pyrogallol, Gallussäure, Tannin. Den rohen, möglichst ungereinigten Holzessig hat zuerst v. MÄHRENTHAL für diese Zwecke verwandt; die erste kurze Angabe macht hierüber JICKELI, ausführlich findet sich diese älteste Methode bei RAWITZ nach v. MÄHRENTHAL's eigenen Angaben beschrieben. Unter vielen anderen ist sie auf v. MÄHRENTHAL's Rath auch für das Studium nervöser Centralorgane, z. B. des Bauchmarks von Lumbricus von FRIEDLÄNDER benutzt worden; nach $^1/_2$—1stündiger Behandlung mit 1%iger Osmiumsäure kommen die Stücke in Holzessig mit 1 : 3 Theilen Wasser verdünnt. Auch HERMANN bediente sich nach voraufgegangenem Auswaschen und Behandeln mit Alkohol der in seinem Fixationsgemisch konservirten Präparate zu dem gleichen Zwecke des Holzessigs. Dieser scheint in zweifacher Weise zu wirken: einmal durch seinen Gehalt an aromatischen Alkoholen, überhaupt an reducirenden Substanzen, zweitens aber direkt färbend, vielleicht durch seine theerigen Bestandtheile; denn HERMANN erhielt auch an Sublimatpräparaten mit Holzessig Färbungen. Nach VOM RATH spült METZNER für die Holzessigmethode die in dessen Osmiumlösungen fixirten Stücke in Methylalkohol ab. Die von LEE betonte Unsicherheit der Holzessigbehandlung wird erklärt durch die schwankende Zusammensetzung des rohen Produktes an reducirenden und Theersubstanzen. LEE bringt die Objekte direkt, also ausnahmsweise ohne Auswaschen, aus der Osmiumsäure oder ihren Gemischen in den Holzessig auf $^1/_2$—24 Stunden oder wendet an seiner statt den aromatischen Alkohol selbst an, indem er die Stücke auf dieselbe Zeit ebenfalls ohne Fortschaffen der Osmiumsäurereste durch Auswaschen in eine schwache, wässerige oder alkoholische Pyrogallollösung bringt; diese Methode ist naturgemäss sicherer.

KOLOSSOW hat ohne Kenntniss der Holzessig- und Pyrogallussäuremethoden von HERMANN, v. MÄHRENTHAL und LEE die Osmiumsäurefärbung besonders zur Darstellung der Endothelien in ausgedehntem Masse benutzt: die Methode geht jetzt meist unter seinem Namen. Er fixirt in 1%iger oder 2%iger wässeriger Osmiumsäurelösung oder in Alkohol absol., Aq. dest. aa. 50 Ccm., Ac. nitr. conc. 2 Ccm., Osmiumsäure 1—2 Grm. Diese alkoholische Osmiumsäurelösung hält sich, aber nur am kühlen Ort, unbegrenzt lange. Sie fixirt besser, dringt jedoch schwerer ein als die wässerige Lösung. Ohne Auswaschen kommen die Objekte in den »Entwickler«, den er folgendermassen bereitet: 30 Grm. Tannin werden in 100 Ccm. destillirten Wassers gelöst; nach 24—48stündigem Stehenlassen im unverschlossenen Gefäss wird filtrirt; zum Filtrat giebt man 30 Grm. Pyrogallussäure, die in 100 Ccm. Wasser gelöst sind, 250 Ccm. Wasser, 50 Ccm. Glycerin, 100 Ccm. Alkohol von 85%. Der Entwickler ist durchsichtig gelbbraun und färbt Osmiumsäurelösung im Reagensglas augenblicklich bläulichschwarz, ohne, selbst nach Monaten, einen Niederschlag zu liefern. Die Zeitdauer der Fixation und der Entwicklung schwankt je nach dem Objekt zwischen 10—15 Minuten (Pleuroperitonealepithel) und einigen Stunden. Aus dem Entwickler kommen die Objekte in schwächere Osmiumsäurelösung; es folgt Abwaschen mit destillirtem Wasser, Entwässerung, Einbettung. Der Entwickler kann zweimal gebraucht werden. An seiner Stelle kann man auch eine filtrirte 5%ige wässerige Tanninlösung nehmen. Das Ergebniss ist folgendes: die Kerne sind grau, die Nukleolen schwarz, die Deckplatten der Zellen im Serosaepithel schwach grau; die tiefer gelegenen protoplasmatischen Theile

der Zellen mehr oder weniger intensiv grauschwarz; ebenso Cilien und Wimpern; Bakterien und Verbindungen der Zellen miteinander treten deutlich hervor. Für die Untersuchung des Gefässendothels injicirt Kolossow die Fixations- und die Entwicklerlösung. Nach Lee leistet die komplicirte Kolossow-Methode nicht mehr als seine einfache Vorschrift. — Für andere Organe als die Endothelmembranen hat Kolossow eine Abänderung seiner Methode angegeben: $^1/_2$—1%ige Osmiumsäure $^1/_2$ Stunde bis 8 Stunden mit 5—10 Tropfen Acidum nitricum auf je 100 Ccm.; Entwickeln mit einmaliger Erneuerung der Flüssigkeit 10—16 Stunden; 85%iger Alkohol, der 3—4mal zu wechseln ist. Später hat Kolossow seine Methode besonders für Drüsenepithelien modificirt: Nach Ausspritzen der Gefässe mit physiologischer Kochsalzlösung injicirt er in das zu bearbeitende Organ für 2—3 Minuten ein Gemisch von 0,5%iger Osmiumsäure 100 Ccm., 30%iger Salpetersäure 0,5—1,0 Ccm., Eisessig 1,0 Ccm., Kaliumnitrat 10—12 Grm., zerschneidet dann das Organ in kleine Stücke, die auf 12—24 Stunden in 0,5%ige Osmiumsäure, dann auf 24 Stunden in 10%ige Tanninlösung kommen, die so lange gewechselt wird, bis sie sich nicht mehr schwärzt; dann folgt Auswaschen und Entwässern. Die Kolossow-Methode ist besonders auch für die Färbung der elastischen Fasern verwandt worden, die bei gewöhnlicher Osmiumsäurebehandlung sich früher färben, als das übrige Gewebe und schliesslich einen hellgraubraunen Ton annehmen, z. B. von Gardner für das Nackenband.

Weiterhin hat dieser Autor mit einem frisch bereiteten Gemisch von 4 Theilen koncentrirter wässeriger Kupfersulfatlösung und 1 Theil 1%iger Osmiumsäure 3—4 Stunden fixirt und zur Reduktion die Gallussäure verwandt. Unna's sekundäre Osmirung beruht auf der Reduktion des Osmiums durch Digallussäure. Azoulay fixirt in Osmiumgemischen, behandelt mit Alkohol und reducirt sodann in Tannin. Die Osmiumfärbung mit Holzessig ist besonders für Infusorien, Rhizopoden, Rotatorien (Zograf: 2—4 Minuten $^1/_4$—$^1/_5$%ige Osmiumsäure; 5—10 Minuten ein verdünnter Holzessig 1:8—10 Wasser; Abspülen in Wasser; Alkohol 50—100%: Glycerin oder Balsameinschluss), für Echiniden zur Darstellung von Krystalloiden im Kern der Wanderzellen (List), für Cestoden (Will, Köhler), die Färbung mit Pyrogallol vielfach für markhaltige Nervenfasern empfohlen worden (Robertson). Für achromatische Figuren giebt Häcker die Nachbehandlung mit rohem Holzessig, Methylalkohol, dann mit 70%igem Alkohol an. Man kann im einzelnen Fall auch die Schnitte der Holzessignachbehandlung unterwerfen, wie Jänichen für Turbellarien, Augen von Planarien angiebt.

Eine andere Osmiumsäurefärbemethode mittels Nachbehandlung der aus der Osmiumsäure kommenden Objekte in wässeriger Oxalsäure (1 : 15) hat Brösike angegeben; das Resultat ist eine Rothfärbung bestimmter Elemente in verschiedener Stärke, während andere Gewebetheile ganz ungefärbt bleiben. Nach Fol kennt auch M. Schultze dieses Verfahren.

Nachträgliche Osmirung von Stücken oder Schnitten ist sowohl zu Fixations- als auch zu Färbungszwecken benutzt worden.

Einmal schickte man eine Behandlung mit leicht eindringenden Mitteln voraus, um gewissermassen der trägen Osmiumsäure den Weg zu bahnen. In Wirklichkeit wirken die zu diesem Zweck benutzten Säuren ganz anders, ebenso wie in den Gemischen (s. pag. 1057). Verwandt wurden in dieser Weise Ameisensäure (Kultschitzky), Essigsäure (Cybulsky) und $^1/_2$%ige Arsensäure 15 Minuten, dann $^1/_2$%ige Osmiumsäure 15—20 Minuten, Aq. dest., Glycerin nach Cattaneo für Sehnenendkörperchen. Weiterhin ist häufig nach Salpetersäurefixation Osmiumsäure benutzt worden: Benda fixirt Salamanderhoden mit 10%iger Salpetersäure und bringt ihn dann in 1%ige Osmiumsäure für Achromatinuntersuchungen. Reid fixirt Haut von Anguilla je 24 Stunden mit Salpetersäure in 10%iger Lösung, darauf mit 1%iger Osmiumsäure. Fritsch fixirt das elektrische Organ ebenfalls mit Salpetersäure mit nachfolgender Osmiumsäurebehandlung. Unger behandelt

mit 10%iger Salpetersäure oder 1—5%igem Formol vor und mit 0,5 bis 1%iger Osmiumsäure nach.

Nachträgliche Osmirung zu Färbungszwecken benutzen RANVIER für Haut, die mit MÜLLER's Lösung fixirt und mit ammoniakalischem Karmin durchgefärbt war; BUSCH und RUSSOLIMO für Celloidinschnitte von Formolmaterial zur Darstellung von Fettkörnchenzellen: Fixation 1—2 Tage lang in 5%igem Formol; die Schnitte gelangen 2—3 Stunden in 0,5%ige Chromsäure, werden mit destillirtem Wasser abgespült und dann mit Osmiumsäure in 0,2%iger oder 1%iger Lösung oder mit noch schönerem Ergebniss unmittelbar nach der Chromsäure mit einer Mischung behandelt, die aus 2 Th. 2%iger Osmiumsäure, 2 Th. 2%igem Formol, 10 Th. destillirten Wassers, 10 Th. 95%igen Alkohols oder aus 10 Th. 1%iger Osmiumsäure, 10 Th. 95%igen Alkohols und 2 Th. Formol besteht. LORD behandelt Schnitte von Objekten, die mit Pikroformol, d. h. gleichen Theilen eines 6%igen Formols und koncentrirter wässeriger Pikrinsäure zu gleichen Theilen, drei Tage lang fixirt wurden, 12 Stunden mit 0,25%iger Osmiumsäure und lässt die NISSL'sche Methylenblaufärbung folgen. ARNOLD verwendet nach Formolfixation sekundäre Osmirung mit 0,25%iger Osmiumsäure an Schnitten und an Hollundermarklamellen, die mit Fett resorbirenden Rundzellen erfüllt sind. GRAUPNER behandelt sympathisches Nervengewebe erst einen Tag mit MÜLLER's Flüssigkeit, dann mit Osmiumsäure, wobei Ueberfärbung mit dieser vermieden werde. Nach PFITZNER wirkt Osmiumsäure nach Fixation in Kaliumbichromat ebenso wie Chromsäure nach Kaliumbichromat.

Nachträgliche Osmirung durch Räucherung nimmt STUHLMANN für das Centralnervensystem von Branchipus, der mit 30%igem heissen Alkohol fixirt war, an den bereits aufgeklebten Schnitten vor.

Sekundäre Osmirung als Färbebeizung benutzt KÜCKENTHAL für Alkoholmaterial von Opheliaceen: er lässt 1%ige Osmiumsäure 10—18 Stunden wirken und färbt nach gutem Auswaschen mit Hämatoxylin. Aehnlich verfährt LUSTGARTEN, der sie als Farbbeize für die Färbung des elastischen Gewebes mit Viktoriablau verwendet.

Nachträgliche Fixation mit Osmiumsäure an macerirten Objekten hat RANVIER für die Hyaloidea, die in seinem Drittelalkohol macerirt worden war, bei der Klasmatocytendarstellung mittels 2 Minuten langer Behandlung mit 2%iger Osmiumsäure benutzt. Aehnlich verfährt ARNOLD nach Isolation des Gewebes mit Jodjodkalium mit einer 1%igen Lösung für 24 Stunden, und KULTSCHITZKY nach Maceration in $^1/_{10}$%iger Salpetersäure mit $^1/_{10}$%iger Lösung zur Darstellung der GRANDRY'schen Körperchen; W. KRAUSE behandelt zur Darstellung der Nervenfasern an Froschmuskeln, die 3—4 Stunden lang mit koncentrirter Oxalsäurelösung und zwei Minuten mit kochendem Wasser isolirt worden waren, mit 0,1%iger Osmiumsäure 24 Stunden lang.

Der Reduktionsfärbung am sekundär osmirten Präparat bedient sich MC. CALLUM zum Studium der Entwicklung der quergestreiften Muskelfaser: nach ihm ergiebt die KOLOSSOW-Methode besonders schöne Plasmafärbungen an Schnitten, die von Alkohol-, Formol- oder MÜLLER-Material stammten; er legt sie 2—3 Minuten in 2%ige Osmiumsäure.

An sekundär osmirten, dann reducirten Objekten kann natürlich auch wieder zu Differentiationszwecken die partielle Bleichung ausgeführt werden: HELLER und GUMPERTZ fixiren mit MÜLLER's Gemisch, osmiren ihre Schnitte mit 1%iger Lösung 24—48 Stunden lang bei 37° und bleichen mit Kaliumpermanganat und 1—2%iger Oxalsäure für den Nachweis der markhaltigen Nervenfasern in der Haut. HELLER bringt Schnitte vom Centralnervensystem, das in MÜLLER'scher Lösung fixirt war, in 1%ige Osmiumsäure auf 10 Minuten bei Bruttemperatur, auf 30 Minuten bei Zimmertemperatur, spült ab, reducirt mit Pyrogallol, und schliesst ebenfalls die partielle Bleichung mit Kaliumpermanganat zur Differenzirung daran. AZOULAY osmirt Celloidinschnitte von Material, das mit MÜLLER'scher Flüssigkeit fixirt war, zur Darstellung markhaltiger Nervenfasern in sehr dünnen, 0,2—0,1%igen Osmiumsäurelösungen auf 5—15 Minuten, spült sie leicht in Wasser ab und reducirt in 5—10%iger Tanninlösung unter Erwärmen bis zum Dampfen

oder 2—5 Minuten bei 50—55°, wäscht in Wasser aus und färbt mit Karmin. Dicke Schnitte behandelt er nach PAL (s. pag. 943) oder mit Aqua Javelli 1 : 50.

Wirkungsweise der Osmiumsäure: FISCHER hat nachgewiesen, dass Osmiumsäure für sich allein »ein sehr schwaches und unvollständiges Fällungsmittel« sei; insbesondere für Nukleïne, Nukleoalbumine, Nukleïnsäure; dass die Rolle der Fixation bei der gewöhnlichen Herrichtung der Präparate vielmehr dem Entwässerungsalkohol zufalle, da diese Stoffe beim Auswaschen der Präparate dialytisch nicht entfernbar seien. Von einer rasch abtödtenden Wirkung der Osmiumsäure im Sinne FLEMMING's kann infolge von Ausfällung der Eiweisskörper nicht die Rede sein, vielmehr wirke die Osmiumsäure durch eine Art von »Erstickung« und konservire so z. B. homogene Plasmatheile in naturgetreuem Zustande. In diesen fixirten Zelltheilen ist indessen nach kurzdauernder Einwirkung der Osmiumsäure noch die Ausfällung der Eiweissstoffe durch Fällungsmittel möglich; nach langdauernder Osmiumsäureeinwirkung aber nicht mehr. Die Bedeutung der Osmiumsäuregemische als Fixationsmittel liegt in der Ergänzung dieser der Substanz allein mangelnden Fällungskraft; die Zusätze von Säuren, wie Essigsäure oder Ameisensäure, bedeutet insbesondere allein schon die Möglichkeit, viele Eiweisskörper in wasserunlöslicher Form auszufällen, denen gegenüber die Osmiumsäure in alkalischer oder neutraler Lösung ganz machtlos ist. Man kann nach FISCHER geradezu das Auftreten von Fällungsbildern, z. B. im Kern, nur durch saure Osmiumsäuregemische, dagegen homogenes Aussehen bei reiner Osmiumsäurebehandlung, für die Diagnose einer alkalischen Reaktion verwerthen. Histiologisch wird die Osmiumsäure insbesondere als »plasmaerhaltendes« Mittel geschätzt (TELLYESNICZKY, v. WASIELEWSKI): bei ihrer Anwendung erhält das Cytoplasma ein eigenartig homogenes Aussehen, das man nach MOENCKEBERG und BETHE am Hühnereiweiss bei Osmiumsäurefixation gut beobachten kann und das z. B. nach MANN nach Osmiumsäurefixation an den Nervenzellen sehr deutlich werde, füllt aber z. B. in Pflanzenzellen den ganzen Zelleninnenraum aus. So führt auch BOLAU an, dass das Kolloid der Thyreoideabläschen bei 2%iger Osmiumsäurefixation den ganzen Follikel ausfüllt und keine Schrumpfung zeigt. Diese treffliche Plasmafixation betrifft wesentlich die äussere grobe Form: es ist wohl zu vermuthen, dass in dem homogenen Osmiumbilde des Zellenleibes manches feinere Detail verschwindet. Hierhin gehört auch die Bemerkung, dass die Osmiumverbindungen mancher Substanzen sich in ihrer Färbbarkeit verändert zeigen: so färbt sich mit Osmiumsäure imprägnirtes Eleïdin in der Haut nach RANVIER nicht mehr mit Pikrokarmin. Für die Fixation des Kernes hebt FLEMMING insbesondere das scharfe Hervortreten der Nukleolen hervor, und für die Studien der Kerntheilung sind die FLEMMING'schen und HERMANN'schen Osmiumgemische geradezu die klassischen Fixationsmittel geworden. — KOTLAREWSKY, die die Osmiumsäure zu den Säuren rechnet, betont die schlechte Fixation des Kernes in peripherischen Ganglienzellen, mit Ausnahme allein des Nukleolus. EISEN behauptet, dass die Osmiumsäure das Chromatin zerstöre. RAWITZ erklärt nach seinen Erfahrungen am Salamanderhoden, dass Osmiumsäure kernfeindliche Tendenz besitze und das Kerngerüst zerstöre; nach FLEMMING ist das Kerngerüst nur undeutlich geworden, weil ihm die Osmiumsäure den gleichen Brechungsindex wie dem übrigen Kerninhalt ertheile.

Neben der immerhin vorzüglichen Fähigkeit der Osmiumsäure, die Struktur der Gewebe naturgetreuer zu erhalten, als die meisten anderen Mittel, verdankt sie der Hervorhebung der funktionell oder von Hause aus verschiedenen Reduktionskraft der Gewebe durch verschiedene Farbabstufungen ihre ausgedehnte Verwendung. Historisch war diese Eigenschaft der Anstoss ihrer ersten Verwendung durch

Max Schultze für die Leuchtorgane von Lampyris splendidula, da sie sehr genau die Orte der das Leuchten bedingenden Processe zu erforschen gestattete. Für den gleichen Zweck ist sie später noch von Emery für Luciola italica und zur Lokalisation eines anderen Oxydationsprocesses von Wistinghausen benützt worden, der die Peritonealhaut der Tracheen bei Raupen sich schwärzen sah. — Insbesondere gehört aber hierher ihre Benutzung zum Nachweis und zur Unterscheidung von Fetten und fettartigen Körpern, die sich mit Osmiumsäure behandelt tief schwärzen. Hierbei hat man nach Starke und Handwerck »primäre Schwärzung«, d. h. Schwärzung schon durch die Einwirkung der Osmiumsäure für sich allein und »sekundäre Schwärzung« zu unterscheiden, die erst bei der Nachbehandlung des Osmiumpräparates mit Alkohol auftritt: primär schwärzen sich Oelsäure und Oleïn im flüssigen Zustand, sekundär Palmitin, Palmitinsäure, Stearin, Stearinsäure, wobei zu bemerken ist, dass Handwerck bei der von ihm untersuchten Stearinsäure keine sekundäre Schwärzung eintreten sah. Diese Verschiedenheit des Verhaltens zur Osmiumsäure, die verschiedene Löslichkeit der osmirten Körper, der Verlust des Reduktionsvermögens durch Vorbehandlung mit anderen Agentien hat der Osmiumsäure specielle Bedeutung für den Nachweis und die Trennung des Fettes, des Lecithins (Wlassak), des Myelins, des Cholestearins (Ledermann), des Cerebrins und anderer ähnlicher Körper verschafft, z. B. der fettähnlichen Substanz der Nebennierenrinde, der durch Osmirung schwärzbaren Körnchen der normalen menschlichen Haut, deren Reaktion durch Gegenwart oder Vorbehandlung mit Chromsäure nach Barlow verhindert wird. (Näheres siehe ausser bei Wlassak, Handwerck, Starke, bei Merk.) Als specieller Fall sind hier die Marchi-Methoden für die Degeneration der markhaltigen Nervenfasern zu erwähnen (s. pag. 961).

Derartige reducirende Substanzen können weiterhin auch erst künstlich in den Thierkörper eingeführt und ihre Schicksale mit Hilfe der Osmiumsäure verfolgt werden. So hat De Waele den Verbleib verfütterter Dextrose beim Frosch durch Fixation des Darmes in 10 Th. 5%iger Kupferacetatlösung und 1 Th. 2%iger Osmiumsäure eine halbe Stunde lang bei 65° und Weiterbehandlung mit Hermann'scher Lösung zu erforschen versucht. Hierher gehört auch das Korrosionsverfahren von Altmann für Blut- und Lymphgefässe, das auf der Injektion oder Imprägnation der Bahnen mit Olivenöl oder Ricinusöl, deren Schwärzung durch Osmiumsäurebehandlung und der Korrosion mit Aq. Javelli beruht. (Näheres s. Injektion pag. 603.)

Das deutliche Hervortreten der elastischen Fasern und ihre im osmirten Zustande ganz ausgezeichnete Färbbarkeit mit verschiedenen Farbstoffen haben zur Ausbildung von besonderen Osmiumsäuremethoden für elastische Substanz, die gleiche Erscheinung an den Schleimzellen zur Empfehlung als Fixirmittel für Mucinfärbungen mit Hämatoxylin (Flemming) und mit Anilinfarben (Sussdorf) geführt. Nach Langley quellen die kleinen Bläschen bei Behandlung mit geringen Mengen von Osmiumsäurelösung und werden bei grösseren zerstört.

Der ausgedehnten Anwendung der Osmiumsäure ist in beträchtlichem Masse ihr hoher Preis hinderlich. Als Nachtheil auch ihrer besten Gemische ist das schwere Eindringen in die Gewebe zu erachten, das doch im allgemeinen nur die Behandlung kleiner, nicht recht übersichtlicher Stücke zulässt; ferner die häufige »Ueberfixation« der äusseren Schichten (Rawitz), in denen die stürmische Osmiumsäurewirkung zum Vorschein kommt, und die mangelhafte Lebenstreue im Innern; in geringerem Grade weiterhin die beengte Auswahl der ohne weitere Behandlung anwendbaren Kernfärbemittel, insbesondere das refraktäre Verhalten der Osmiumpräparate gegen die so wichtigen Dreifarbgemische von Ehrlich und Biondi; endlich die leichte Brüchigkeit, die übermässige Erhärtung, das Bröckeln der Stücke, das sich allerdings bis auf wenige Ausnahmen, z. B. bis auf den

Dotter, durch richtige Einbettung vermeiden lässt. Die früher sehr geschätzte gute Schnitthärte der Objekte hat bei der heute ausgebildeten Einbettungsmethode ihre Bedeutung grösstentheils verloren.

Litteratur: Brauell (De acidi osmici in homines et animalia effectu commentatio physiologica, Utschonija Tapiski (Memoiren) d. Univ. Kasan 1849), Max Schultze (Verh. d. naturh. Ver. d. preuss. Rheinlande u. Westfalens. 21. Jahrg., Bonn 1864; Arch. mikr. Anat., Bd. 1, 1865), Max Schultze und Rudneff (Arch. mikr. Anat., Bd. 1, 1865), Fr. E. Schulze (Ueber den Bau und die Entwicklung der Cordylophora lacustris, Leipzig 1871), Merk (Sitzber. Ak. Wiss. Wien, Abth. 3, Bd. 108, 1899), Metzner (Arch. Anat. Phys., phys. Abth., 1894), Lee und Mayer (Grundzüge 1901, pag. 25), Merk (Sitzber. Ak. Wien, Bd. 108, Abth. 3, 1899, pag. 359), Cori (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 6, 1890), Busch (Neur. Ctbl., 17. Jg., 1899, Zeitschr. f. Mikr., Bd. 15, 1899), Lee (Lee u. Mayer, Grundzüge 1901, pag. 26), Mayer (ebenda), Bristol (Amer. Nat., Bd. 27, 1893), Kolossow (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 9, 1892). Mayer (Lee und Mayer, Grundzüge 1901, pag. 26), Negri (Anat. Anz., Bd. 16, 1899), Gedoelst (Cellule, Bd. 5, 1889), Fabre Domergue (Ann. Mikrogr., Paris, T. 2, 1890), Béla Haller (Morph. Jahrb., Bd. 11, 1885), Pauli (Arch. f. wiss. u. prakt. Thierheilk., Bd. 10, 1884), Kunstler (Bull. scient. d. l. France et d. l. Belgique, Bd. 20, 1889), Pouchet (Journ. de l'anat., 1876), Eimer (Virch. Arch., Bd. 48, 1864), Tellyesniczky (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), v. Wasielewski (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 16, 1899), Flemming (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 6, 1889), Böhm und Oppel (Taschenbuch 1896), Drüner (Jen. Zeitschr. f. Naturw., Bd. 29, 1895), Brass (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 1, 1884), O. Schultze (Zeitsch. wiss. Zool., Bd. 45, 1887), Boveri (Abh. Ak. Wiss. München, Bd. 15, Abth. 2, 1885), Lewis (Human brain, London 1882), Prenant (Internat. Mts. Anat. Phys., Bd. 4, 1887), Flesch (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 5, 1888), Biondi (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, 1887), Knoll (Sitzb. Ak. Wien, Abth. 3, Bd. 102, 1893), Chapeaux (Arch. de Biol., Bd. 12, 1892), Preusse (Arch. f. wiss. u. prakt. Thierheilk., Bd. 9, 1885), Ferri (Journ. de Mikrogr., Bd. 2, 1885, C. R. Ac. de Paris 1885, Bd. 76), Poljakoff (Arch. mikr. Anat., Bd. 32, 1888), Ranvier (Traité technique, Paris 1888), Iwanzoff (Bull. Soc. Impér. de Natur. d. Moscou, Année 1894), Minchin (Quart. Journ. Micr. Science [2], Bd. 40, 1898), Lo Bianco (Mitth. Zool. Stat., Bd. 9, 1890), Russo (Ric. fatte nel. Labor. d. Anat. norm. alla R. Univ. d. Roma, Bd. 4, 1895), Whitman (Amer. Natur., Bd. 17, 1883, Methods 1885, pag. 152), Fol (Lehrbuch 1896, pag. 96), Lee und Mayer (Grundzüge 1901, pag. 27), Fischer (Arch. f. Entwicklungsmech., Bd. 13, 1901), Koestler (Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 39, 1883), Andrews (Zeitschr. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), Ranvier (Traité tech. 1875, pag. 954), Bütschli (Morph. Jahrb., Bd. 10, 1884), Eberlein (Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 59, 1895), Pappenheim (Virch. Arch., Bd. 151, 1898), Grassi e Feletti (Atti d. Accad. Catania [4], Bd. 5, 1892), Köhler (Rec. Zool. Suisse 1889), Ballowitz (Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 50, 1890; Bd. 52, 1891; Inter. Mts. Anat. Phys., Bd. 11, 1893), Ritter (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 15, 1898), Jolly (Arch. d'Anat. Micr., Bd. 3, 1900), Carnoy (Cellule, Bd. 1, 1885), Lee u. Mayer (Grundzüge 1901, pag. 325), Gilson (Cellule, Bd. 1, 1885), Johnson (cit. nach Lee u. Mayer, Grundzüge 1901, pag. 41), Schuberg (Morph. Jahrb., Bd. 12, 1886), Heidenhain (Pflüg. Arch., Bd. 34, Suppl. 1888), O. Hertwig (Morph. Jahrb., Bd. 10, 1884), Minchin (Quart. Jour. Micr. Sc., Bd. 33, 1892), Fol (Lehrbuch 1896, pag. 174), Lee und Mayer (Grundzüge 1901, pag. 49), Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 6, 1870), Fol (Lehrbuch 1896, pag. 174), Renaut (Arch. de Phys. norm. et path., Année 13, 1881), Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891; Anat. Anz., Bd. 11, 1896), vom Rath (Zool. Anz., Bd. 21, 1898), Ruskow (Arch. mikr. Anat., Bd. 30, 1887), Dubosq (Arch. Zool. exp. [3], Bd. 6, 1899), Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1877), Wisselingh (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 15, 1898), Fol (Lehrbuch 1896, pag. 101), Plate (Jen. Zeitschr. f. Naturw., Bd. 19, 1885), Brauer (Jen. Zeitschr. f. Naturw., Bd. 19, 1885), Schiefferdecker (Arch. mikr. Anat., Bd. 28, 1886), Mac Bride (Quart. Journ. [2], Bd. 34, 1892; Bd. 38, 1896), Nagel (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, 1888), Iwanzoff (Bull. Soc. Imp. Natur. d. Moscou, Année 1894), Rankin (Jen. Zeitschr. f. Naturw., Bd. 24, 1890), Pfitzner (Morph. Jahrb., Bd. 11, 1885), Kingsbury (Proc. Amer. Micr. Soc. 1894), Max Schultze (Arch. mikr. Anat., Bd. 7, 1870), Altmann (Elementarorganismen, 1894, pag. 118), Deckhuyzen (Ctbl. f. Phys. 1889, Nr. 21), Flemming (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 6, 1889), Mayer (Flor. Faun. Golf v. Neapel, Bd. 6, 1882), Flemming (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 6, 1889), Mahalanobis (Govern. Report Fishery Board for Scotland, May 1898), Flemming (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 6, 1889), Nicolas (Int. Mts. Anat. Phys., Bd. 8, 1891), Handwerk (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 15, 1898), Wlassak (Arch. f. Entwicklungsmech., Bd. 6, 1898), Plecnik (Arch. mikr. Anat, Bd. 60, 1901), Nissen (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 3, 1886), Altmann (Elementarorganismen, 1894, pag. 38), Zoja (Bollet. scientif. Pavia, Anno 15, 1893), Flemming (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 6, 1889), Kolster (Arch. mikr. Anat., Bd. 41, 1890), Cox (Anat. Hefte, Bd. 10, 1898), Lee u. Mayer (Grundzüge 1901, pag. 50), Altmann (Elementarorganismen, 1894, pag. 39), Unna (Mtsh. f. prakt. Dermat., 1883), Overton (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 7, 1890), Solger (Centralbl. f. med. Wiss., Jg. 21, 1883), Bristol (Amer. Nat., Bd. 27, 1893), Mayer (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 14, 1897; Lee u. Mayer, Grundzüge, 1901, pag. 29), Binet (Journ. d. l'Anat. Phys. Paris, Bd. 30, 1894), Mayer (Mitth. Zool. Stat. Neap., Bd. 2, 1880), Kuhn (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1877), Mönckeberg und Bethe (Arch. mikr. Anat., Bd. 54, 1899), Carazzi (Zool. Anz., Bd. 17, 1894), Fol (Lehrbuch, 1896, pag. 174), Mayer (Lee u. Mayer, Grundzüge, pag. 29, 1901), Benda (Verh. Anat. Ges., VII. Vers., Göttingen 1893), Heidenhain (Arch. f. ges. Phys., 1888, Suppl.), Pal (Wiener med.

Jahrb., N. F., Jg. 1886), EXNER (Sitzber. Ak. Wien, Abth. 3, Bd. 83. 1881), BELLONCI (Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 47, 1888), FLEMMING (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 6, 1889), STEFANOWSKA (Rec. Zool. Suisse, Bd. 5, 1890), KORSCHELT (Zool. Jahrb., Bd. 4, 1889), JICKELI (Morph. Jahrb, Bd. 7, 1882). RAWITZ (Leitfaden, 1. Aufl., 1889), FRIEDLÄNDER (Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 47, 1888), HERMANN (Arch. mikr. Anat, Bd. 37, 1891; Anat. Hefte, 2. Abth., Bd. 1, 1897), VOM RATH (Zeitschr. wiss. Zool.. Bd. 57, 1893), METZNER (Arch. Anat. Phys., phys. Abth. 1894), LEE (Cellule, Bd. 4, 1887), (LEE et HENNEGUY, 1887, pag. 149; LEE und MAYER, 1901, pag. 241), KOLOSSOW (Zeitschr. f. Mikr., Bd 9, 1892), LEE (Zeitschr. f. Mikr.. Bd. 9, 1892). KOLOSSOW (Zeitschr. f. Mikr., Bd. 9, 1892), (Arch. mikr. Anat, Bd. 52, 1898), GARDNER (Biol. Ctbl., Bd. 17, 1897), AZOULAY (Anat. Anz., Bd. 10, 1894), ZOGRAF (C. R. Ac. Paris, Bd. 124. 1897), LIST (Anat. Anz., Bd. 14, 1897), WILL (Zeit. wiss. Zool., Bd. 56, 1893), KÖHLER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 57, 1894), HÄCKER (Zellen- u. Befruchtungslehre 1899), JÄNICHEN (Zeit. wiss. Zool., Bd. 62, 1896), BROESIKE (Ctbl. f. med. Wiss., Jg. 16, 1878), FOL (Lehrbuch, 1896, pag. 174), KULTSCHITZKY, CYBULSKY, cit. nach KOLOSSOW (Zeit. f. Mikr., Bd. 5, 1888). CATTANEO (Arch. ital. de Biol., Bd. 10, 1888), BENDA (Verh. d. Phys. Ges. z. Berlin, 1891 92; Verh. d. anat. Ges., VII. Vers., Göttingen 1893), REID (Phil. Trans., Bd. 165. 1894), FRITSCH (Sitzb. Akad. Wiss. Berlin, Bd. 44. 1891), UNGER (Anat. Hefte, Bd. 10, 1898), RANVIER (Journ. de Microgr., Bd. 10, 11, 1886, 1887), BUSCH (Neur. Centralbl., Bd. 15, 1896), RUSSOLIMO und BUSCH (ebenda), LORD (Journ. Ment science, 1898; Neur. Ctbl., Bd. 17, 1898). ARNOLD (VIRCH. Arch., Bd. 163, 1900), GRAUPNER (ZIEGL. Beitr., Bd. 24, 1898), PFITZNER (Morph. Jahrb., Bd. 11, 1886), STUHLMANN (Zool. Anz, Bd. 8, 1885), KÜKENTHAL (Jen. Zeit. f. Naturw., Bd. 20, 1887), LUSTGARTEN (Med. Jahrb. d. k. k. Ges. d. Aerzte, Wien 1886), RANVIER (C. R. Acad. d. Sc. Paris, Bd. 115, 1892), ARNOLD (Arch. mikr. Anat, Bd. 52, 1898), KULTSCHITZKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 23, 1884), W. KRAUSE (Die motorischen Endplatten, Hannover 1869), MC. CALLUM (JOHNS HOPKINS Hospit. Bull. Nr. 90, 91, 1899), HELLER und GUMPERTZ (Ges. d. Charité-Aerzte, 1895; Allg. med. Centralzeit., 1895, Nr. 40), HELLER (Arch. f. Psych. u. Nervenkr., 1898, Bd. 30), AZOULAY (Anat. Anz., Bd. 10, 1894), FISCHER (Protoplasma etc., 1899, pag. 12, Arch. f. Entwmech., Bd. 13, 1901), FLEMMING (Zelle, 1882, pag. 381), TELLYESNICZKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 52. 1898), v. WASIELEWSKI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), BOLAU (Inaug.-Diss., Jena 1899), RANVIER (Arch. Anat. mikr., Bd. 3, 1899), FLEMMING (Zelle etc., 1882, pag. 140), KOTLAREWSKY (Inaug.-Diss., Bern 1887), EISEN (Journ. of Morph., Bd. 17, 1900), RAWITZ (Arch. mikr. Anat., Bd. 44, 1895; Anat. Anz., Bd. 10, 1895), FLEMMING (Arch. mikr. Anat., Bd. 45, 1895), MAX SCHULTZE (Arch. mikr. Anat., Bd. 1, 1865), EMERY (Zeit. wiss. Zool., Bd. 40, 1884), WISTINGHAUSEN (Zeit. wiss. Zool, Bd. 49, 1890), HANDWERCK (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), STARKE (Arch. f. Anat. Phys., phys. Abth., 1895), WLASSAK (Arch. f. Entwmech., Bd. 6, 1898), LEDERMANN (Ergheft z. Arch. f. Dermat. u. Syph., 1892), BARLOW (Sitzb. d. Ges f. Morph. u. Phys., Jg. 1894), MERK (Sitzb. Ak. Wiss. Wien 1899, Abth. 3, Bd. 108), DE WAELE (Livre jubil. VAN BAMBEKE, Brüssel 1899), ALTMANN (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1879), FLEMMING (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), SUSSDORF (Deutsche Zeit. f. Thiermed. u. vergl. Path., Bd. 14, 1889), LANGLEY (Proc. Phys Soc., Bd. 2, 1889, Cambridge), RAWITZ (Anat. Anz., Bd. 10, 1895).

Poll, Berlin.

Osmiumsäuregemische. Den Mängeln der Osmiumsäurefixation hat man durch Vermischung mit anderen Mitteln abzuhelfen gesucht; im allgemeinen rein empirisch, so dass zur Zeit die zur Orientirung unter der Unzahl der Osmiumgemische so nothwendige rationelle, d. h. fixirungstechnische Eintheilung noch nicht gegeben werden kann; die ersten Ansätze bildet die oben (pag. 1054) angedeutete Abtrennung der neutralen von den sauren Osmiumgemischen nach FISCHER. Die unten folgende Eintheilung verfolgt nur heuristische Absichten.

Osmiumsäure ist zu ganz verschiedenen Zwecken mit anderen Mitteln kombinirt worden: dem einen war die auch von FISCHER zugestandene specifische Wirkung als schnelles Tödtungsmittel massgebend; andere versuchten durch Verbindung mit fixationstechnisch indifferenten Mitteln, der Osmiumsäure das Eindringen in die Gewebe zu erleichtern. Mischungen mit Farben endlich dienten der gleichzeitigen Färbung und Fixation. — Die Nachbehandlung der mit Osmiumgemischen fixirten Objekte erfolgt im allgemeinen nach den gleichen Grundsätzen, die bei der reinen Osmiumsäure besprochen wurden; das gilt auch für Bleichung und Reduktionsfärbung. Abweichungen von der üblichen Methode sind ausdrücklich angegeben.

Eintheilung der Osmiumsäuregemische.

1. Osmiumsäure und Alkohol.
2. Osmiumsäure und Säuren.
3. Osmiumsäure und Chromsäure.

4. Osmiumsäure und Chromsalze.
5. Osmiumsäure und Schwermetallsalze.
6. Osmiumsäure und Alkalisalze.
7. Osmiumsäure und Farbstoffe.

1. Osmiumsäure und Alkohol

ist ein unbeständiges Gemisch, da innerhalb 24 Stunden sämmtliche Osmiumsäure zu metallischem Osmium reducirt ausfällt. Die Rolle dieser Reaktion ist schon bei der Nachbehandlung der Osmiumsäurepräparate berührt worden. Osmiumsäure in alkoholischer Lösung haben Ranvier, Vignal, Binet (für das Nervensystem der Arthropoden), Gedoelst für die Darstellung des Neurokeratinnetzes der Nervenfasern, Weiss et Dutil zum Studium der Muskelspindeln in Form der interstitiellen Injektion angewandt. Ranvier und Vignal benützen gleiche Theile $1^0/_0$iger Osmiumsäure und $90^0/_0$igen Alkohols.

2. Osmiumsäure und Säuren:

Einsäurige Gemische:

1. Osmiumsäure und Essigsäure.
2. Osmiumsäure und Ameisensäure.
3. Osmiumsäure und Pikrinsäure.
4. Osmiumsäure und Salpetersäure.

Zweisäurige Gemische:

1. Osmiumsäure, Pikrinsäure und Essigsäure.
2. Osmiumsäure, Pikrinsäure und Salpetersäure.
3. Osmiumsäure, Pikrinsäure und Schwefelsäure.

Einsäurige Gemische: Osmiumessigsäure ist in zahlreichen Variationen für die verschiedensten Zwecke benutzt worden. Wesentlich kommt in Betracht die allmählich eintretende Reduktion bei längerer Aufbewahrung dieses und manches anderen Gemisches, in dem beide Substanzen vorkommen (Merk, Henneguy). Osmiumessigsäure bereitet Fol aus 1 Grm. Osmiumsäure, 10 Ccm. Essigsäure, 1000 Ccm. Aqua destillata oder auf Hundert umgerechnet, aus 10 Th. $1^0/_0$iger Osmiumsäure, 50 Th. $2^0/_0$iger Essigsäure, 40 Th. Aqua destillata (Schmidt). Lee und Mayer empfehlen allgemein, der Osmiumsäure $^1/_2$—$1^0/_0$ Essigsäure zuzusetzen.

Hamann nimmt für Augen der Asteroideen gleiche Theile $1^0/_0$iger Osmiumsäure und $1^0/_0$iger Essigsäure und bettet ohne Alkoholbehandlung in Gummiglycerin; Schwarz benützt für männliche Cypriden ein Gemisch aus 1 Th. $2^0/_0$iger Osmiumsäure, $2^0/_0$iger Essigsäure 5 Th., 4 Th. Aqua destillata; Fabre Domergue fixirt Protozoen unter dem Deckglase mit gleichen Theilen $1^0/_0$iger Osmiumsäure und $20^0/_0$iger Essigsäure; Johnson nimmt für die Retina gleiche Theile $2^0/_0$iger Osmiumsäure und Essigsäure. Hertwig fixirt Froscheier in einem Gemisch von $0{,}3^0/_0$ Osmiumsäure und $0{,}1^0/_0$ Essigsäure. (Osmium-Essigsäuregemische zur Maceration s. pag. 761.)

Osmiumsäure-Essigsäure-Alkohol nach Zacharias siehe Alkohol pag. 24.

Osmiumsäure und Ameisensäure: Lee und Mayer setzen für allgemeine Fixationszwecke statt der Essigsäure auch $^1/_2$—$1^0/_0$ Ameisensäure der Osmiumsäure zu.

Osmiumsäure und Pikrinsäure in ähnlichem Verhältniss wie in der Kombination mit Ameisensäure erwähnt Flemming; doch ist die Kernfärbung schlechter als bei dieser.

Osmiumsäure und Salpetersäure nach Nicolas für Wirbelthierdarm besteht aus 3 Th. Salpetersäure, 0·5 Th. Osmiumsäure, 100 Th. Wasser. Nach der Fixation wird ausgewaschen und dann entwässert.

Zweisäurige Gemische: Osmiumsäure, Pikrinsäure und Essigsäure nach vom Rath, Häcker, s. Pikrinsäure; nach Spuler für Mesenterium: Pikrinsäure koncentrirt wässerig 1000 Ccm., Eisessig 6 Ccm., Osmiumsäure 0·5 Grm.; nach Giesbrecht für marine Copepoden Pikrinsäure koncentrirt in Seewasser mit etwas Essigsäure und Osmiumsäure.

Osmiumsäure, Pikrinsäure und Salpetersäure nach RAWITZ: Pikrinsäure, Salpetersäure, 2%ige Osmiumsäure, 1½—3 Stunden, Auswaschen in 70%igem Alkohol; MONTGOMERY probirte für Protozoen ein ähnliches Gemisch, ohne genauere Angaben zu machen.

Osmiumsäure, Pikrinsäure und Schwefelsäure: MAZZARELLI setzt für die Aplysiidenlarven zur Pikrinschwefelsäure einige Tropfen 1%iger Osmiumsäure; ebenso ERLANGER für Prosobranchier und für Tardigraden auf 1 Ccm. Pikrinschwefelsäure 1 Tropfen 1%iger Osmiumsäure.

3. Osmiumsäure und Chromsäure:

1. Osmiumsäure und Chromsäure ohne Zusatz.
2. Osminmsäure, Chromsäure mit Säuren:
   a) mit Essigsäure;
   b) mit Salpetersäure;
   c) mit Pikrinsäure.
3. Osmiumsäure, Chromsänre mit Säuren und Schwermetallchloriden:
   a) mit Platinchlorid, Ameiseusäure; mit Platinchlorid, Essigsäure;
   b) mit Sublimat, Essigsäure.

Osmiumsäure und Chromsäure ist das Ausgangsgemisch für unsere wichtigsten Fixationsmittel, die FLEMMING'sche und die HERMANN'sche Flüssigkeit, geworden. Es fixirt und entkalkt zugleich in sehr schonender Weise; zuerst hat es FLESCH für kalkhaltige embryonale Gewebe in folgender Zusammensetzung angewandt: Osmiumsäure 1 Grm., Chromsäure 2,5 Grm. auf 1 Liter destillirten Wassers. Diese Flüssigkeit hält sich im Lichte unverändert; Fixationsdauer 20—30 Stunden; wenn es nothwendig ist, lässt man zur Vollendung der Entkalkung Nachbehandlung mit ¼—½%iger Chromsäure folgen; sonst wird wie gewöhnlich ausgewaschen und entwässert.

SOLLAS fixirt Spongien in schwachen Chromsäurelösungen mit Zusatz von etwas Osmiumsäure, ohne nähere Angaben. BROCK setzt zu einem Uhrgläschen 0,1%iger Chromsäurelösung einen Tropfen 1%iger Osmiumsäure zur Fixation von Agriolimax agrestis. BARRET fixirt die Retina in ⅕ Theil Osmiumsäure, ⅙ Theil Chromsäure auf 100 Theile Wasser oder in $^1/_{10}$ Theil Osmiumsäure, ¼ Theil Chromsäure auf 100 Theile Wasser und bringt sie dann auf 14 Tage in alkoholische Karbolsäurelösung. LO BIANCO fixirt grosse Scyphomedusen in 1 Theil 1%iger Osmiumsäure und 50 Theilen 1%iger Chromsäure, nachdem er sie in Essigsäure abgetödtet hat. TIRELLI bringt Nerven in 2%ige Chromsäurelösung in Bouillon, der wiederholt kleine Mengen 1%iger Osmiumsäure zugesetzt werden, auf 6 bis 12 Stunden, zieht dann das Bindegewebe ab und wäscht mit 0,5%igem Silbernitrat ab. WILLEY behandelt Enteropneusten 12 Stunden mit 100 Theilen 1%iger Chromsäure und 2 Theilen 1%iger Osmiumsäure. BÖHM und OPPEL geben als Zusammensetzung für Felsenbeine von Embryonen an: 10 Ccm. 1%iger Osmiumsäure, 25 Ccm. 1%iger Chromsäure, 65 Ccm. Wasser. Osmiumchromsäuregemisch als haltbare Osmiumsäurelösung (siehe pag. 1045).

Osmiumsäure und Chromsäure mit Alkohol giebt BARRET für Retina als schnell, aber etwas schrumpfend wirkendes Gemisch an: Osmiumsäure $^1/_{10}$ oder ⅕ Theil, Chromsäure ¼ oder ⅙ Theil, dazu käuflicher Alkohol und Wasser je 50 Theile.

Saure Osmiumchromsäuregemische: Osmiumsäure, Chromsäure und Essigsäure oder FLEMMING'sche Flüssigkeit siehe pag. 388.

Osmiumsäure, Chromsäure und Pikrinsäure: FOL setzt zu 10 Theilen koncentrirter wässeriger Pikrinsäure 25 Theile 1%ige Chromsäure und 65 Theile Wasser, unmittelbar vor dem Gebrauch etwa 0,005 Theile Osmiumsäure und wäscht in heissem, fast kochendem Wasser aus; das Gemisch dringt nicht tief ein.

Osmiumsäure, Chromsäure und Salpetersäure ist zur Vereinigung einer fixirenden und entkalkenden Wirkung von PARKER für Protopterus annectens benutzt worden in Form einer ½%igen Chromsäure, die mit Osmiumsäure und einigen Tropfen Salpetersäure versetzt war. Auswaschen in Alkohol. BURKHARDT bedient sich eines ähnlichen Gemisches von besser an-

gegebener Zusammensetzung: 1%ige Chromsäure 300 Grm., 2%ige Osmiumsäure 10 Grm., koncentrirte Essigsäure 10 Grm.

Osmiumsäure, Chromsäure, Salpetersäure und Alkohol nach GEDOELST siehe Salpetersäure.

Saure Osmiumsäure-Chromsäuregemische mit Schwermetallchloriden: Osmiumsäure, Chromsäure, Platinchlorid und Ameisensäure hat PIANESE für Koccidienleber 36 Stunden lang benutzt: 1%ige wässerige Lösung von Natriumchloroplatinat 15 Ccm., 0,25%ige Chromsäure 5 Ccm., 2%ige Osmiumsäure 5 Ccm., 1 Tropfen Acidum form. pur.

Osmiumsäure, Chromsäure, Platinchlorid und Essigsäure hat BRASS durch Zusatz von 2—3 Tropfen Osmiumsäure zu 50 Grm. des Chromsäure-Platinchlorid-Essigsäuregemisches (s. Platinchlorid) erhalten.

Osmiumsäure, Chromsäure, Sublimat und Essigsäure von PODWYSSOTZKI: ½%ige wässerige Sublimatlösung, in der 1% Chromsäure gelöst ist, 15 Ccm., 2%ige Osmiumsäure 4 Ccm., Eisessig 6—8 Tropfen. Fixiren 3—4 Tage, 12—20 Stunden auswaschen, Entwässern. MAXIMOW verwendet diese Lösung für Placentastudien; BRAZZOLA für Hoden.

4. Osmiumsäure und chromsaure Salze:

a) Neutrale Osmium-Chromatgemische:
1. Osmiumsäure und Kaliumbichromat;
2. Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Kochsalz;
3. Osmiumsäure, Kaliumbichromat und Eosin;
4. Osmiumsäure und MÜLLER'sche Flüssigkeit;
5. Osmiumsäure, MÜLLER'sche Flüssigkeit und Formol.

b) Saure Osmiumchromatgemische:
1. Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Essigsäure;
2. Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Essigsäure und Salpetersäure.

c) Saure Osmiumchromatgemische mit Schwermetallchloriden:
1. Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Platinchlorid, Essigsäure;
2. Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Platinchlorid, Ameisensäure.

Die neutralen Osmiumchromatgemische sind nicht im chemischen Sinne neutral; nur ALTMANN verlangt dies. Das Osmiumbichromatgemisch nach ALTMANN s. pag. 28, nach GOLGI s. pag. 472. GEDOELST benutzt zur Darstellung der LANTERMAN'schen Segmente zweistündige Behandlung mit 10 Th. 2%igen Kaliumbichromats, 2 Th. 1%iger Osmiumsäure; LÖWENTHAL für Bindegewebe 24stündige Fixation mit 4 Th. 2,5%igen Kaliumbichromats und 1 Th. 1%iger Osmiumsäure: darauf Auswaschen mit destillirtem Wasser, 70%igem Alkohol auf 36—48 Stunden.

Osmiumsäure, Kaliumbichromat und Kochsalz giebt WLASSOW für Blutplättchen an: 1%ige Osmiumsäure 2—3 Tropfen, 5%iges Kaliumbichromat 4 Tropfen, 0,8%ige Kochsalzlösung 4 Grm.

Osmiumsäure, Kaliumbichromat und Eosin setzt VANLAIR zum Studium der centripetalen Veränderungen der Nerven nach Amputationen aus je 10 Th. 1%iger Osmiumsäure, ½%igen Kaliumbichromats und 2 Th. 2%iger Eosinlösung zusammen.

Osmiumsäure und MÜLLER'sche Flüssigkeit benutzt VALENTI zum Studium der Nervenzellen- und Neurogliaentwicklung bei Selachiern: LA CROIX für die Fixation der Milchdrüse: sie wird in geringer Menge dem Bichromatgemisch zugesetzt.

Osmiumsäure, MÜLLER'sche Flüssigkeit und Formol nach FISH für das Golgiverfahren besteht aus je 2 Th. Formol und 1%iger Osmiumsäure auf 100 Th. MÜLLER'sche Flüssigkeit.

Saure Osmiumchromatgemische: Osmiumsäure, Kaliumbichromat und Essigsäure nach HOEHL für die Untersuchung der Zahnpulpa besteht aus 80 Th. 3%igen Kaliumbichromats, 20 Th. 1%iger Osmium-

säure und 2 Th. Eisessig. In dieser Lösung wird 48 Stunden im Dunkeln fixirt, ausgewaschen und die Objekte werden nach KOLOSSOW gefärbt.

Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Essigsäure und Salpetersäure zur Reduktionsfärbung der Osmiumpräparate s. pag. 1051.

Saure Osmiumchromatgemische mit Schwermetallchloriden: Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Platinchlorid und Ameisensäure oder Essigsäure nach JOHNSON ist ein vorzügliches Fixationsmittel; ursprünglich ist es für die Nachbehandlung der mit Osmiumdämpfen geräucherten Retina bestimmt gewesen. Es besteht aus 70 Th. 2,5%igen Kaliumbichromats, 10 Th. 2%iger Osmiumsäure, 15 Th. 1%igen Platinchlorids, 5 Th. Essigsäure oder Ameisensäure. HENNEGUY, der es warm empfiehlt, setzt die Säure erst unmittelbar vor dem Gebrauch zu.

5. Osmiumsäure mit Schwermetallsalzen:

a) Neutrale Gemische:
1. Osmiumsäure mit Platinchlorid;
2. Osmiumsäure mit Sublimat;
3. Osmiumsäure mit Eisenchlorid;
4. Osmiumsäure mit Uransalzen;
5. Osmiumsäure mit Kupferacetat.

b) Saure Gemische.

I. Einsäurige Gemische:
1. Osmiumsäure, Platinchlorid, Essigsäure;
2. Osmiumsäure, Platinchlorid, Pikrinsäure;
3. Osmiumsäure, Sublimat, Essigsäure;
4. Osmiumsäure, Sublimat, Pikrinsäure;
5. Osmiumsäure, Platinchlorid, Sublimat, Essigsäure;
6. Osmiumsäure, Palladiumchlorür, Essigsäure;
7. Osmiumsäure, Kobaltchlorid, Ameisensäure.

II. Zweisäurige Gemische:

8. Osmiumsäure, Platinchlorid, Essigsäure und Pikrinsäure;
9. Osmiumsäure, Sublimat, Essigsäure und Pikrinsäure.

Neutrale Gemische: Osmiumsäure und Platinchlorid hat VAN DER STRICHT für Zellenstudien empfohlen in der Form von 16 Th. 1%igen Platinchlorids und 4 Th. 2%iger Osmiumsäure. Fixationsdauer 10—20 Tage, Auswaschen, dann Nachbehandlung mit Holzessig (s. pag. 1051).

Osmiumsäure und Sublimat im Gemisch ist von sehr vielen Seiten angegeben worden. Die Nachbehandlung hat einerseits durch langes Auswaschen für das Fortschaffen der Osmiumsäurereste, dann aber noch durch Jodbehandlung für die Entfernung des Sublimatüberschusses zu sorgen.

BÜHLER konservirt Spinalganglienzellen in 2—10 Theilen 1%iger Osmiumsäure auf 100 Theile Sublimat und entfernt das Sublimat mit Jodalkohol, die Osmiumfärbung mit Terpentinöl; MANN empfiehlt für Nervenzellen ein frisch bereitetes Gemisch von gleichen Theilen 1%iger Osmiumsäure und von Sublimat nach HEIDENHAIN; SZYMONOWICZ fixirt Entensehnabelstücke in 12 Theilen gesättigter Sublimatlösung und 2 Theilen 2%iger Osmiumsäure; PAPPENHEIM nimmt für das Amphibienblut ein Gemisch aus gleichen Theilen frisch bereiteter 2%iger Osmiumsäure und koncentrirtem Sublimat; v. APÁTHY benutzt zur Fixation der Neurofibrillen ein frisch bereitetes Gemisch aus gleichen Theilen Sublimat, gelöst in ½%iger Kochsalzlösung und 1%iger Osmiumsäure; METALNIKOFF injicirt dieses Gemisch zur Fixation von Sipunculus; KOLSTER fixirt zum Studium der Nervenzellen von Petromyzon fluviatilis in 100 Ccm. gesättigter Sublimatlösung in 0,5%iger Kochsalzlösung mit 2—4 Grm. Osmiumsäure; HEIDENHAIN empfiehlt sein Sublimat mit einem geringen Zusatz von Osmiumsäure; BRAUN benutzt für Alcyonarien, Bryozoen, Hydra ein kochendes Gemisch von 20—25 Ccm. koncentrirten Seewassersublimats mit 4—5 Tropfen 1%iger Osmiumsäure.

Osmiumsäure und Eisenchlorid erwähnt ohne genauere Zusammensetzung FLORENTIN für Spirostomum.

Osmiumsäure und Urannitrat oder -acetat hat KOLOSSOW als leicht eindringende und die gelbbraune Färbung des Cytoplasma verhindernde Osmiumsäuregemische empfohlen. Er fixirt 16—48 Stunden in einer 0,5%igen Lösung von Osmiumsäure in 2—3%iger Auflösung der genannten Uransalze.

von denen er das Nitrat für das bessere erklärt. Nachbehandlung durch Auswässern, Entwässern.

Osmiumsäure und Kupferacetat ist nach GARDNER ein geeignetes Fixationsmittel zum Studium der Entwicklung der elastischen Fasern im Amnion: er fixirt in 4 Th. gesättigter wässeriger Lösung von Kupferacetat und 1 Th. 1%iger Osmiumsäure 3—4 Stunden, dann behandelt er mit Gallussäure nach (s. pag. 1051).

Saure Osmium-Schwermetallsalzgemische mit einer Säure (einsäurige):

Osmiumsäure, Platinchlorid und Essigsäure oder HERMANN'sche Lösung s. Platinchlorid. Modifikation der HERMANN'schen Flüssigkeit nach NIESSING für Zellenstudien: 25 Th. 10%igen Platinchlorids, 20 Th. 2%iger Osmiumsäure, 5 Th. Eisessigs, 50 Th. Aq. dest.

Osmiumsäure, Platinchlorid und Pikrinsäure von BORGERT für Protozoen empfohlen.

Osmiumsäure, Sublimat, Essigsäure nach DRÜNER für Zellenstudien am Salamanderhoden: zu 20 Th. Eisessigsublimat, bestehend aus je 15 Th. Eisessig und Sublimat auf 300 Th. Wasser, setzt er 1 Th. 1%iger Osmiumsäure; nach COX für Spinalganglienzellen zur Fibrillendarstellung: 20 Th. koncentrirter Sublimatlösung, 10 Th. 1%ige Osmiumsäure, 5 Th. Eisessig mit nachfolgender Bleichung durch Wasserstoffsuperoxyd (s. pag. 1050): nach SCLAVUNOS für embryonales Rückenmark: Eisessigsublimat mit einigen Tropfen Osmiumsäure.

Osmiumsäure mit LANG'schem Gemisch benutzt BRAUN für Rhabdocölen: LANG's Gemisch 3, 1%ige Osmiumsäure 1. 5 Minuten lang, Abspülen, Alkohol. Osmiumsäure mit GILSON's Gemisch benutzt DIERCKS (s. Sublimat). Osmiumsäure mit dem Gemisch von RIPART et PETIT s. pag. 702.

Osmiumsäure, Sublimat und Pikrinsäure nach VOM RATH (s. Pikrinsäure) mit Nachbehandlung mit ungereinigtem Holzessig oder Tannin, dann Jodalkohol (für Salamanderhoden).

Osmiumsäure, Platinchlorid, Sublimat und Essigsäure hat NIESSING für Zellstudien an Leber, Milz von Salamander und embryonale menschliche Leber benützt: 10%iges Platinchlorid 25 Th., 2%ige Osmiumsäure 20 Th., Eisessig 5 Th., koncentrirtes wässeriges Sublimat 50 Th.; COX hat für Spinalganglienzellen angegeben: koncentrirtes Sublimat 15 Th., 1%ige Osmiumsäure 10 Th., Eisessig 5 Th., 5%iges Platinchlorid 15 Th.

Osmiumsäure, Palladiumchlorür und Essigsäure nach FRENKEL für Glandula submaxillaris vom Hund: 1%iges Palladiumchlorür 15 Th., 2%ige Osmiumsäure 5 Th., Essigsäure oder eine andere organische Säure einige Tropfen, Fixation 24—48 Stunden; gut Auswaschen, Entwässern.

Osmiumsäure, Kobaltchlorid und Ameisensäure nach PIANESE für Koccidienleber: 1%iges wässeriges Kobaltchlorid 20 Th., 2%ige Osmiumsäure 5 Th., Ameisensäure 1 Tropfen, für 36 Stunden.

Zweisäurige Osmiumschwermetallsalzgemische: Osmiumsäure, Platinchlorid, Essigsäure und Pikrinsäure, und Osmiumsäure, Sublimat, Essigsäure und Pikrinsäure nach VOM RATH (s. Pikrinsäure); von TOWER für das Nervensystem empfohlen.

6. Osmiumsäure und Alkalisalze:

Diese Osmiumsäuregemische sind, da eine ihrer Komponenten nicht fixirend wirkt, mit den übrigen nicht auf eine Stufe zu stellen.

Osmiumsäure mit Kochsalzlösung: METZNER weist nach, dass sich in 0,6%iger Kochsalzlösung mehr Osmiumsäure lösen lässt, nämlich 6%, als in Aqua destillata; in 15%iger Kochsalzlösung löst sich Osmiumsäure nur zu 4,5—5%. Die Kochsalzlösungen der Osmiumsäure dringen

besser in die Gewebe ein; MANN benutzt für Nervenzellen eine 1⁰/₀ige Osmiumsäurelösung in 0,75⁰/₀iger Kochsalzlösung. Zur Blutplättchenzählung bedient sich BIZZOZERO eines Gemisches von 1 Th. 1⁰/₀iger Osmiumsäure und 3 Th. 0,1⁰/₀iger Kochsalzlösung; zur Blutfixation verwendet EWALD auf 3—4 Tropfen Amphibien- oder Reptilienblut 10 Ccm. einer Lösung von 0,5 Grm. Osmiumsäure, 0,5 Grm. Kochsalz auf 100 Ccm. Wasser; für Säugethierblut nimmt er 0,6—0,7 Kochsalz auf 100 Ccm. Wasser.

Osmiumsäure und Natriumjodat nach BUSCH dringt besser in die Gewebe ein, da es die Reduktion der Osmiumsäure verzögere: er nimmt für 300 Ccm. Wasser 1 Grm. Osmiumsäure und 3 Grm. Natriumjodat.

Osmiumsäure und Alaun empfiehlt UNNA; er fügt 1 Grm. Alaun zu 100 Ccm. 1⁰/₀iger Osmiumsäurelösung.

7. Osmiumsäure mit Farblösungen.

Gleichzeitige Fixation mit Osmiumsäure und Färbung ist von einigen Autoren durch Zusatz von Farben zur Osmiumsäure erreicht worden. GRIESBACH hat eine systematische Untersuchung über diese Art von Gemischen angestellt, in der er u. a. die Kombinationen von Osmiumsäure mit Methylgrün, Methylviolett, Kristallviolett, Eosin, Safranin, Säurefuchsin, Rhodamin, Jodjodkalium bespricht.

So benutzt auch IWANZOFF Methylgrün- oder Gentianaviolettlösung für die Nesselkapseln der Medusen, ROSSI eine Mischung von gleichen Theilen 1⁰/₀iger Osmiumsäure, Wasser und starker Methylgrünlösung zur Blutfixation und für Sperma, DELAGE für Convoluta Osmiumkarmin, das er aus gleichen Volumina einer starken Karminlösung in NH_3-haltigem Wasser und 1⁰/₀iger Osmiumsäure mit folgender Filtration bereitet, das BÖHMIG nach Sublimatfixation zur Färbung verwendet. POLJAKOFF erzeugt im lockeren Bindegewebe mit einem Gemisch von 1 Theil Pikrokarmin und 2 Theilen 0,5⁰/₀iger Osmiumsäure eine Oedemblase, bringt die abgeschnittenen Stückchen in reines Pikrokarmin auf 12—24 Stunden und schliesst in neutrales leicht verdünntes Glycerin ein, in dem die Details nach einigen Tagen deutlich werden. Für das Studium von Netz, Gekröse, Milz injicirt er intraperitoneal 10—12 Grm. der Lösung. Später empfiehlt er beide Agentien zu gleichen Theilen gemischt für Untersuchung der Wanderzellen. DUBOSQ färbt und fixirt Arthropodenblut gleichzeitig in einem Gemisch von gleichen Theilen 1⁰/₀iger Osmiumsäure, 1⁰/₀igem wässerigen Thionin, 1⁰/₀iger Essigsäure, in welcher Kupferacetat und Kupferchlorid zu je 1⁰/₀ gelöst sind. KANTHACK und HARDY fixiren und färben gleichzeitig basophil granulirte Zellen in einer dünnen Methylenblaulösung unter Zusatz einer Spur von Kali causticum und Osmiumsäure. VANLAIR's Gemisch s. pag. 1061.

Litteratur: FISCHER (Protoplasma etc., 1899, pag. 12; Arch. f. Entwicklungsmech., Bd. 13, 1901), RANVIER (Leç. d'anat. gén., 1880). VIGNAL (Arch. de Phys., 1884, 3. Ser., Bd. 4, BINET (Journ. Anat. Phys. Paris, Bd. 30, 1894). GEDOELST (Cellule, Bd. 5, 1889), WEISS et DUTIL (Arch. d. Phys., 1896, 5. Ser., Bd. 4), MERK (Sitzber. Ak. Wiss. Wien, 3. Abth., Bd. 108, 1899), HENNEGUY (Leçons sur la cellule, Paris 1896, pag. 61), JOHNSON (cit. nach LEE und MAYER, Grundzüge, 1901, pag. 52), LEE und MAYER (Grundzüge, 1901, pag. 28), FOL (Lehrbuch 1896, pag. 99), SCHMIDT (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), HAMANN (Beitr. Histol. Echinodermen, H. 2, 1885, pag. 2), SCHWARZ (Ber. d. naturf. Ges. zu Freiburg i. Br., Bd. 3, 1888), FABRE DOMERGUE (Ann. Microgr. Paris, Bd. 1, 1889), HERTWIG (Morph. Jahrb., Bd. 10, 1885), JOHNSON (cit. nach LEE und MAYER, Grundzüge, 1901, pag. 52), LEE und MAYER (Grundzüge, 1901, pag. 28), FLEMMING (Zelle etc., 1882, pag. 381), REGAUD (Journ. Anat. Phys. Paris, Bd. 30, 1894), NICOLAS (Int. Mts. Anat. Phys., Bd. 8, 1891), SPULER (Arch. mikr. Anat., Bd. 40, 1892), GIESBRECHT (cit. nach LEE und MAYER, Grundzüge, 1901, pag. 429), RAWITZ (Leitfaden, 2. Aufl., 1895, pag. 24), MONTGOMERY (Journ. of Morphology, Bd. 15, 1898), MAZZARELLI (Mem. d. Soc. ital. d. Science dei XL [3], Bd. 9, 1893), ERLANGER (Quart. Journ., Bd. 33, 1892; Morph. Jahrb., Bd. 22, 1895). FLESCH (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1879), SOLLAS (Quart. Journ. [2], Bd. 24, 1884), BROCK (Zeit. wiss. Zool., Bd. 44, 1886), BARRET (Quart. Journ., N. 5, Bd. 26, 1886), LO BIANCO (Mitt. Zool. Stat. Neapel, Bd. 9, 1890), TIRELLI (Monit. Zool. ital. Anno 5, 1894), WILLEY (Zool. Results, Willey, Cambridge, Part 3, 1899), BÖHM und OPPEL (Taschenbuch, 1896, pag. 112), BARRET (Quart. Journ., N. 5, Bd. 26, 1886), FOL (Lehrbuch, 1884, pag. 100), PARKER (Ber. d. naturf. Ges. zu Freiburg i. Br., Bd. 4, 1889), BURKHARDT (Das Centralnervensystem von Protopterus annectens, Berlin 1892), PIANESE (Arch. Parasitol. Paris, Bd. 2, 1899), BRASS (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), PODWYSSOTZKI (Beitr. zur path. Anat. u. Phys. von ZIEGLER und NEUWERCK, Bd. 1, 1886), MAXIMOW (Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1900), BRAZZOLA (Mem. d. Real. Accad. d. Sc. di Bologna [4], Bd. 8, 1888 u. Bd. 9, 1889), ALTMANN (Elementarorganismen, Leipzig 1894), GEDOELST (Cellule, Bd. 3, 1887), LÖWENTHAL

(Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), Lo Bianco (Mitt. Zool. Stat. Neapel, Bd. 9, 1890), Lee und Mayer (Grundzüge, 1901, pag. 41), Tafani (Arch. ital. de Biol., Bd. 6, 1884), Wlassow (Beitr. z. path. Anat., Bd. 15, 1894), Vanlair (Bull. de l'Acad. Imp. de Méd. de Belgique, 1891), Valenti (Atti d. Real. Acc. Toscana, Pisa, Bd. 12, 1891) La Croix (C. R. Acad. Paris, Bd. 119, 1894), Fish (Trans. Amer. Soc., Bd. 17, 1896), Hoehl (Arch. Anat. Phys., Anat. Abth., 1896), Kolossow (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), Johnson (cit. nach Lee u. Mayer (Grundzüge, 1894, pag. 41), Henneguy (Leçons sur la cellule, 1896, pag. 61), van der Stricht (Arch. de Biol., Bd. 14, 1895), Bühler (Verh. Phys. Med. Ges. Würzburg [2], Bd. 31, 188), Mann (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Szymonowicz (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1896), Pappenheim (Virch. Arch., Bd. 145, 1896), v. Apáthy (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 12, 1897), Metalnikoff (Zeit. wiss. Zool., Bd. 68, 1900), Kolster (Acta soc. scient. Fennicae, Bd. 29, Nr. 2), Heidenhain (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), Braun (Zool. Anz., 9. Jahrg., 1886), Florentin (Ann. Sc. Nat., Bd. 10, 1900), Kolossow (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), Gardner (Inaug.-Diss. Moskau, 1898; Le Physiol. Russe, Bd. 1, 1898/99), Lee und Mayer (Grundzüge, 1901, pag. 400, citiren nach Biol. Centr., Bd. 17, 1897, pag. 398), Niessing (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), Borgert (Zool. Jahrb., Bd. 14, 1900), Drüner (Jen. Zeit. f. Natur., Bd. 28, 1894), Cox (Festschr. d. Niederl. Psychiatr. Vereins anlässl. d. 25. Besteh. 1896, s'Hertogenbosch; Int. Mts. Anat. Phys., Bd. 15, 1898), Sclavunos (Anat. Anz., Bd. 16, 1899), Braun (Arch. f. d. Naturk. Esthlands und Kurlands, Ser. 2, Bd. 10, 1895), Diercks (Cellule, Bd. 16, 1899), Gilson (Cellule, Bd. 1, 1885), Prenant (Cellule, Bd. 3, 1886), Niessing (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), Cox (Festschr., s. ob.), Frenkel (Anat. Anz., Bd. 8, 1893), Pianese (Arch. Parasit. Paris, Bd. 2, 1899), Tower (Zool. Anz., Bd. 19, 1896; Zool. Jahrb., Bd. 13, 1900), Metzner (Arch. Anat. Phys., Phys. Abth., 1894), Mann (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Bizzozero (Festsch. R. Virchow, Bd. 1, 1891), Ewald (Zeit. Biol., Bd. 34, 1897), Busch (Neur. Centr., 17. Jahrg., 1898), Unna (Monatsh. f. prakt. Dermat., Bd. 26, 1898), Griesbach (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Iwanzoff (Bull. Soc. Nat. Moscou [2], Bd. 10, 1896), Rossi (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889; Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 7, 1890), Delage (Arch. Zool. exp. pag. 2, Bd. 4, 1886), Böhmig (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), Poljakoff (Arch. mikr. Anat., Bd. 45, 1895 u. Bd. 57, 1900), Dubosq (Arch. Zool. exp. [3], Bd. 6, 1899), Kanthack und Hardy (Journ. of Phys., Bd. 17, 1884). *Poll,* Berlin.

Ossifikation siehe Knochen und Zähne.

Ovarium. Zur Fixation des Eierstockes der Säugethiere bildet die Flemming'sche Flüssigkeit jedenfalls das klassische Fixationsmittel, und zwar bevorzugt Sobotta die schwache Flemming'sche Flüssigkeit, da die stärkere öfter Schrumpfungen der Zona pellucida ergiebt. Das Gleiche gilt nach demselben Autor von der Hermann'schen Flüssigkeit. Ebenso äussert sich Lange. Sublimat in koncentrirter Lösung wird von H. Rabl benutzt, es soll nach Sobotta ebenfalls Schrumpfung machen. Weit bessere Resultate soll nach dem letzteren eine Mischung von gleichen Theilen koncentrirter Sublimatlösung und koncentrirter Pikrinsäure mit zwei Theilen Wasser und 2% Eisessig geben. Stoeckel fixirt menschliche Ovarien in Müller-Formol, das aber nach Rabl eine ganz ungeeignete Konservirung ergiebt. Bouin fand für Rattenovarien Hermann'sche Flüssigkeit recht geeignet und Holmgren benutzt für Katzenovarien Carnoy'sche Lösung. Regaud und Policard fixiren das Ovarium der Hündin in Bichromatessigsäure nach Tellyesnicky.

Loyez fixirt Reptilieneier in Flemming'scher Flüssigkeit oder Gilsonschem Sublimat, Carnoy und Lebrun bevorzugen für Amphibienovarien ebenfalls das letztere. Die Stücke dürfen höchstens 30 Minuten darin liegen, da sonst die Eier zu brüchig werden. Born fixirt Tritonovarien 2 Tage lang in 0,3%iger Chromsäure, die beim Einlegen eine Temperatur von 80—90° hatte. Sublimatessigsäure giebt für die jüngsten Stadien ebenfalls gute Resultate. Pfister empfiehlt in ähnlicher Weise 0.5%ige Chromsäure für Froschovarien, Schmidt koncentrirtes Sublimat mit 2—3% Eisessig für Selachierovarien.

Zur Färbung der Schnitte können alle möglichen Zellfärbungen herangezogen werden. Sobotta lobt besonders eine etwas modifirte Benda'sche Eisenhämatoxylinfärbung. Die Schnitte kommen für 12—20 Stunden in mit 2 Theilen Wasser verdünnten Liquor ferri sulfur. oxyd., auswaschen in Wasser und Uebertragen in Weigert'sches Hämatoxylin mit Lithionzusatz für 1 Minute, differenziren in dünner Salzsäure (1—2‰) und neutralisiren in ammoniakalischem Wasser. Holmgren färbt zum Nachweis feinster

Kanälchen und Fortsätze in den Eizellen mit der WEIGERT'schen Elastinfärbung, mit Toluidinblau-Erythrosin oder mit Eisenhämatoxylin. CARNOY und LEBRUN färben Amphibienovarien zunächst 4—5 Minuten in mit Essigsäure angesäuerter Indigkarminlösung und dann 2 Stunden mit alkoholischer (50%) Safraninlösung. Differenziren mit 80%igem Alkohol.

Zur Färbung der Eierstocksnerven leistet sowohl die rasche GOLGI-Methode (6—8 Tage in Osmiumbichromat), als auch die Methylenblaufärbung (4%ige Lösung von Methylenblau rect. in die Aorta injicirt, Ovarien freigelegt und nach ½ Stunde herausgenommen), als auch die Goldmethoden nach GOLGI gute Dienste (RIESE, V. HERFF). WINTERHALTER lässt 6 bis 8 Wochen in Osmiumbichromat liegen, MANDEL 3—4 Wochen, dann in halbgesättigter Kupferacetatlösung gewaschen, bis kein Niederschlag entsteht, dann wieder 5—6 Tage Osmiumbichromat, dann Silber.

Litteratur: SOBOTTA (Arch. mikr. Anat., Bd. 45, 1895), derselbe (Anat. Hefte, 26, 1897), H. RABL (ebenda, 34/35, 1898), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 54, 1899), STOECKEL (ebenda, Bd. 53, 1898), BOUIN (Bibl. anat., Bd. 7, 1899), HOLMGREN (Anat. Anz., Bd. 18, 1900), REGAUD und POLICARD (C. r. Assoc. Anat. III. Sess. Lyon, Nancy 1901). LOYES (Compt. rend., Bd. 130, 1900), CARNOY und LEBRUN (Cellule, Bd. 17, 1900), BORN (Arch. mikr. Anat., Bd. 43, 1894), PFISTER (ebenda, Bd. 52, 1898), SCHMIDT (Inaug.-Diss. Utrecht, 1898), RIESE (Anat. Anz., Bd. 6, 1891), v. HERFF (Zeit. Geburt. Gynäk., Bd. 14, 1892), WINTERHALTER (Arch. Gynäk., Bd. 51, 1896), MANDEL (ebenda, Bd. 48, 1895).

Oxalsäure, Acidum oxalicum $C_2H_2O_4 = \begin{array}{l}COOH \\ | \\ COOH\end{array}$, ist im Pflanzen- und Thierreich in Form von Salzen weit verbreitet. Sie wird im grossen durch Schmelzen von Sägespähnen mit einem Gemisch gleicher Theile Natron und Kali dargestellt.

Die Säure des Handels krystallisirt mit 2 Molekülen Krystallwasser in durchsichtigen monoklinen Prismen, die beim Erhitzen auf 100° wasserfrei werden; auch beim Stehen an der Luft erfolgt langsam Wasserabgabe (Verwitterung).

Oxalsäure löst sich bei 14° in 10 Theilen Wasser und in 2,5 Theilen Alkohol: wasserfreier Aether nimmt bei 15° 1,27 Theile der Säure auf.

Oxalsäure ist eine kräftige Säure, die partiell Chlorwasserstoff und Salpetersäure auszutreiben vermag; sie bildet neutrale Salze der Formel $\begin{array}{l}COO\,M \\ | \\ COO\,M\end{array}$ und saure von der Zusammensetzung $\begin{array}{l}COO\,M \\ | \\ COO\,H\end{array}$; letztere krystallisiren bisweilen noch mit einem Molekül freier Oxalsäure und bilden dann die sogenannten »übersauren« Salze (z. B. Kleesalz: $C_2O_4HK \,.\, C_2O_4H_2$). Charakteristisch ist das Verhalten der Oxalsäure

1. zu koncentrirter Schwefelsäure; sie wird dadurch in Wasser, Kohlensäure und Kohlenoxyd zerlegt: $\begin{array}{l}COO\,H \\ | \\ COO\,H\end{array} = H_2O + CO_2 + CO.$

2. zu löslichen Kalksalzen. Diese erzeugen in neutraler oder ammoniakalischer Lösung eine Fällung von oxalsaurem Kalk, C_2O_4Ca, der in Essigsäure unlöslich, in Mineralsäuren löslich ist. *Neuberg,* Berlin.

Die Oxalsäure hat als kräftige organische Säure in der Mikrotechnik mannigfache Verwendung gefunden. Sie wird als Macerationsmittel, zur Reduktion von Osmium- und Goldpräparaten, als Zusatz zu manchen Farb- und Fixationslösungen und ähnlichen Zwecken benutzt.

In pflanzlichen Geweben kann sie oder ihre Salze nachgewiesen werden mittels Calciumnitrat (Bildung von Calciumoxalat) oder bei nicht zu kleinen Mengen durch Uranacetyl (Bildung rhombischer Krystalle von Uranoxalat).

Litteratur: SCHIMPER (Flora 1890).

Oxydase siehe Enzyme.

Oxyhämoglobinkrystalle siehe Blutkrystalle.

P.

Pacini'sche Körperchen finden sich in dem Unterhautbindegewebe an der Volar- und Seitenfläche der Hand, der Fusssohle und vor allen Dingen der Zehen und Finger, ferner im Periost und an den Beugeseiten der Gelenke. Am leichtesten erhält man sie aus dem Mesenterium der Katze, wo sie, besonders bei nicht zu jungen Thieren, oft in Masse vorkommen.

Sehr demonstrative Präparate erhält man, wenn man von Fingern oder Zehen von Neugeborenen die Haut der Volarfläche bis auf den Knochen mit dem Rasiermesser entfernt und dann in 0,5%iger Osmiumsäure oder FLEMMING-scher Flüssigkeit fixirt. Auch das Pankreas der Katze, in gleicher Weise behandelt, giebt gute Resultate. Isolirte Körperchen kann man ebenfalls in Osmium fixiren und vorsichtig in Glycerin übertragen.

Die RANVIER'sche Goldameisensäure (Kochmethode), die Golgimethode und die Methylenblaumethode (Färbung auf dem Objektträger) liefern für das Studium der Nervenendigung in den Körperchen vorzügliche Resultate.

Palladiumchlorür, Chlorpalladium, $PdCl_2$, irrthümlicherweise auch Palladiumchlorid genannt, ist von FR. EILHARD SCHULZE in $^1/_8$—$^1/_{10}$%iger wässeriger Lösung, mit etwas Salzsäure angesäuert, empfohlen worden. Es bildet eine braune, an der Luft zerfliessliche Masse und ist dementsprechend in Wasser leicht löslich. Es ist im ganzen zur Fixation selten verwandt worden; von CATTANEO in Lösungen von 1 : 300, 600, 800 für Infusorien auf 1—2 Minuten; für die Untersuchung der Zellbrücken der glatten Muskulatur unter anderem von BARFURTH, zur Darstellung des centralen Kanals der Muskelbalken des Herzens von SOLGER in 1%iger Lösung 24 Stunden lang, für die Fixation von Embryonen von VALENTI; für Nervenzellen hat MANN die $^1/_5$%ige Lösung probirt und angewandt.

Die Nachbehandlung besteht in Auswaschen in destillirtem Wasser. Alkoholhärtung. Das Resultat der Fixation mit Palladium-Chlorür gleicht im wesentlichen, was die Reduktionsfärbungen anlangt, der Osmiumsäure. Häufig hat man sich der entkalkenden Nebenwirkung des Salzes neben der fixirenden bedient (s. pag. 655).

Palladiumchlorürgemische nach FRENKEL mit Osmiumsäure s. unter Osmiumsäure; EISEN ersetzte ohne brauchbare Resultate im HERMANN'schen Gemisch das Platinchlorid durch Palladiumchlorür.

Litteratur: FR. E. SCHULTZE (Centr. med. Wiss., Jg. 1867; Arch. mikr. Anat., Bd. 3, 1867), CATTANEO (Boll. Sc. Pavia 1883, Nr. 3 und 4), BARFURTH (Arch. mikr. Anat., Bd. 38, 1891), SOLGER (Anat. Anz., Bd. 18, 1900), VALENTI (Atti Soc. Toscana, Pisa, Bd. 12, 1891), MANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), SMIRNOFF (Anat. Anz., Bd. 18, 1900), FRENKEL (Anat. Anz., Bd. 8, 1893), EISEN (Journ. Morph., Bd. 17, 1900).

Poll, Berlin.

Pankreas. Für die mikrotechnische Bearbeitung des Pankreas gelten im wesentlichen die für die Speicheldrüsen angegebenen Regeln. Auch hier bilden Sublimat und Sublimatgemische vorzügliche Fixationsmittel. Schulze fixirt Säugethierepankreas in koncentrirtem Sublimat, Jarotzky in 5%igem Sublimat in ½%iger Kochsalzlösung bei 37° (2 Stunden), Ssobolew in Zenker'scher oder Podwyssotzky'scher Flüssigkeit. Nach Eberth und Müller dagegen soll Sublimat die feineren Strukturverhältnisse der Pankreaszellen vielfach verwischen, sie fixiren Pankreas von Amphibien und Fischen in Flemming, Hermann oder Pikrinschwefelsäure. Hermann'sche Flüssigkeit erhält nach Mathews die Protoplasmastrukturen gut, zeigt aber die Granula nur an der Peripherie deutlich, Eisessig löst die letzteren ganz auf, erhält aber die Kerne gut, das Altmann'sche Osmiumbichromatgemisch erhält die Granula gut, fixirt aber Kern und Protoplasma schlecht.

Um die in letzter Zeit in ihrer Bedeutung viel diskutirten Langerhans'schen Inseln gut hervortreten zu lassen, empfiehlt Jarotzky Färbung in Hämatoxylin - Nigrosin - Eosin - Safranin (s. Nigrosin), Mankowski Safranin und Pikrinsäure-Indigkarmin, Ssobolew Safranin-Lichtgrün nach Benda. Wenn man vom Ausführungsgang aus 1%iges Silbernitrat injicirt, in Methylalkohol entwässert und in Paraffin einbettet, so treten die Zellen der Inseln mit schwarzen Körnchen gefüllt gut hervor.

Zur Färbung der centroacinären Zellen empfiehlt sich vor allem die Biondi-Färbung und Eisenhämatoxylin. (Vergl. auch den Artikel Nebenkern.)

Die Ausführungsgänge kann man entweder vom Ductus Wirsungianus aus mit Berlinerblau injiciren oder sie mittels der Golgimethode darstellen (Dogiel, Laserstein). Die letztere Methode zeigt dann häufig, ebenso wie die Methylenblaufärbung sehr gut die Nervenverzweigung und -endigung innerhalb des Organs.

Litteratur: Schulze (Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1900), Jarotzky (Virch. Arch., Bd. 156, 1899), Ssobolew (ebenda, Bd. 168, 1902), Eberth und Müller (Zeit. wiss. Zool., Bd. 53, Suppl. 1892), Mankowski (Arch. mikr. Anat., Bd. 59, 1901), Dogiel (Arch. Anat., 1893), Laserstein (Pflüger's Arch., Bd. 55, 1894), Laguesse (Journ. de l'Anat., Jg. 30, 1894), Mouret (C. r. Soc. Biol., 1895), Mathews (Journ. Morph., Bd. 15, Suppl. 1899).

Pankreatin siehe Verdauung als histologische Methode.

Papaïn siehe Enzyme.

Papilla foliata siehe Zunge.

Paraffin und Paraffineinbettung (inklusive Vorharze). Sonstige Einbettungsmittel. Die Paraffine gehören zur Gruppe der Grenzkohlenwasserstoffe, und zwar zu den höheren Gliedern derselben. Es giebt deren eine grosse Anzahl, die alle unter dem Namen »Paraffine« zusammengefasst werden. Es sind Gemenge von festen Kohlenwasserstoffen der Sumpfgasreihe, die bei 300° C sieden und mit anderen Kohlenwasserstoffen in grösserer oder kleinerer Menge vermischt sind. Das Vorkommen des Paraffins wurde zuerst im Erdöl von Tegernsee im Jahre 1820 von Buchner beobachtet; die fabrikmässige Herstellung desselben datirt von der zweiten Hälfte der Fünfzigerjahre.

Paraffin findet sich gelöst im Erdöle; in fester Form kommt es unter dem Namen Erdwachs oder Ozokerit z. B. in Galizien, unter dem Namen Neftegil auf der Halbinsel Tscheleken vor. Ausserdem wird es bei der trockenen Destillation von gewissen Braunkohlensorten, des Torfes und bituminösen Schiefers gewonnen. In geringen Mengen ist es im Holz- und Steinkohlentheer sowie im animalischen Theer vorhanden.

Der gereinigte Ozokerit kommt unter dem Namen »Ceresin« in den Handel; dieses besitzt eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Bienenwachse. Das Paraffin bildet im gereinigten Zustande eine geruch- und geschmacklose, durchscheinende Masse von bläulichweisser Farbe. Es fühlt sich nur wenig fett an. Sein Schmelzpunkt schwankt zwischen 40° und 85° C. und dem Schmelzpunkt entsprechend variirt das specifische Gewicht zwischen 0,875 und 0,925.

Das Paraffin löst sich nur wenig im Alkohol (100 Th. kochender Alkohol lösen 3 Th. Paraffin); in Aether, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, in fetten Oelen und vor allem in leicht flüssigen Kohlenwasserstoffen, wie Petroleumäther, Benzin etc. sehr leicht. Aus gesättigten Lösungen scheidet sich das Paraffin in glänzenden, blätterigen, rhombischen Krystallen aus.

Paraffin wird von koncentrirten Säuren und Alkalien nicht verändert. Die Grenzkohlenwasserstoffe, zu denen auch das Paraffin zählt, sind überhaupt nur wenig reaktionsfähig und sehr beständig, woher sie auch den Namen »Paraffine« (von parum affinis) führen.

Das Paraffin siedet bei über 300° C und destillirt meist unzersetzt über. An der Luft längere Zeit erhitzt färbt es sich unter Aufnahme von Sauerstoff braun.

Unter Paraffinum solidum, welches in der mikroskopischen Technik zu Einbettungszwecken Verwendung findet, versteht die Pharmac. germ. gebleichten Ozokerit oder sogenanntes weisses Ceresin. Dasselbe ist eine weisse, geruchlose, mikrokrystallinische Masse, welche zwischen 74° und 80° schmilzt. Das specifische Gewicht des Ceresins beträgt 0,918.

Da für die Erkennung von gutem Paraffin sowie speciell für die mikroskopische Technik die Bestimmung des Schmelzpunktes von grösster Wichtigkeit ist, sei hier kurz ein Verfahren hierfür angegeben.

Man schmilzt von dem zu untersuchenden Paraffin eine kleine Menge auf einem Uhrglase und saugt dann von dem geschmolzenen Paraffin wenig (etwa 0,8—1 Cm. hoch) in ein kapillar ausgezogenes Glasröhrchen. Man lässt das Röhrchen vollständig abkühlen und befestigt es dann an einem Thermometer derart, dass es unmittelbar der Thermometerkugel anliegt. Man senkt nun das Thermometer mitsammt der Glaskapillare in ein Becherglas mit Wasser und erhitzt dann dieses, so dass das Thermometer langsam steigt. Der Schmelzpunkt des Paraffins markirt sich nun dadurch, dass dasselbe zunächst durchsichtig wird und schliesslich im Moment, wo es geschmolzen ist, in der Glaskapillare emporschnellt. Man liest in diesem Augenblick die Temperatur auf dem Thermometer ab, die nun eben genau den Schmelzpunkt bezeichnet.

Paraffin wurde in der mikroskopischen Technik zu Einbettungszwecken zuerst von Klebs [1]) empfohlen.

Die Objekte wurden aber damit nicht durchtränkt, sondern einfach damit umgossen. Erst nachdem gewisse Oele, die sogenannten »Vermittlungsmedien« oder »Vorharze«, auch »Vormedien« genannt, zwischen den zur Entwässerung dienenden Alkohol und Paraffin eingeschaltet wurden, war es möglich, das Paraffin in alle Hohlräume des Objektes eindringen zu lassen.

Die Entwässerung des Objektes muss vor gewissen Vormedien eine möglichst vollständige sein, da sich dieselben mit Wasser, auch den geringsten Quantitäten, nicht mischen. Es ist das vor allem Chloroform, Toluol und Xylol. Bei diesen muss die Entwässerung am besten in Alkohol absolutus, zum mindesten in 96%igem, erfolgen.

Um die Entwässerung möglichst schonend, d. h. nicht zu schnell und dabei doch vollkommen zu gestalten, wurden verschiedene Apparate angegeben, die zum Theil auf dem Principe der Dialyse basiren. Es ist dies z. B. der von F. E. Schulze [2]) angegebene, dann von P. Francotte [3]) verbesserte Entwässerungsapparat. Es wird ein breites Glasrohr an einem Ende hutkrempenartig nach aussen umgebogen, am anderen Ende mit

dünnem Papier (sogenanntem Postverdruss) verschlossen. Dieser Cylinder wird in ein grösseres, mit absolutem Alkohol gefülltes Glasgefäss mit der Papiermembran nach unten eingehängt. Das Objekt kommt in Wasser oder verdünntem Alkohol in die innere Röhre und nun tritt nach dem Gesetze der Dialyse ein allmählicher Ausgleich der beiden Flüssigkeiten durch die Membran ein. Zum Schluss kommt das Objekt in reinen absoluten Alkohol.

Auf anderen Principien beruhen die von STEINACH[4]) und SUCHANNEK[5]) zur Entwässerung angegebenen Siebdosen, die Porzellansiebeimerchen von FAIRCHILD[6]), die Platinkörbchen von SCHAFFER[7]), das von R. THOMA[8]) zu diesem Zwecke konstruirte oberschlächtige Wasserrad und viele andere (vergl. darüber B. LEE und P. MAYER[9]). Die einfachste und fast in allen Fällen ausreichende Methode ist das Einlegen der Präparate in ein Glas, auf dessen Boden Watte, Filtrirpapier oder Glaswolle gelegt ist, oder das Aufhängen der Objekte an einem Faden im Alkohol, Oel etc. Letzteres Verfahren ist natürlich nur dann zu empfehlen, wenn es ohne Nachtheil, resp. Verletzung für das Objekt geschehen kann.

Sind nun die so behandelten Objekte möglichst wasserfrei gemacht, so muss bei der Paraffineinbettung zunächst der Alkohol entfernt werden und an seine Stelle hat ein Medium zu treten, welches sich einerseits in der Folge leicht mit Paraffin mischt, unter Umständen aber auch imstande ist, Spuren von Wasser bei vorheriger Verwendung von nicht ganz absoluten Alkohol (z. B. bei Verwendung von 95%igem Spiritus) in sich aufzunehmen, ohne Trübung zu zeigen. So mischen sich z. B. Xylol, Toluol, Nelken-, Bergamott- und Cedernöl nur schlecht mit 95%igem Alkohol.

Andere »Vormedien« oder »Vermittlungsmedien«, nach APÁTHY[10]) auch »Vorharze«, sind Nelkenöl und Kreosot. Sie wurden neben Terpentinöl in der ersten Zeit viel gebraucht; ersteres löst aber kalt nicht viel mehr Paraffin als Alkohol absolutus und mischt sich, wie APÁTHY[10]) richtig angibt, auf dem Schmelzpunkt des verwendeten Paraffins nicht mit diesem. Noch weniger geeignet ist Kreosot, da es sich überhaupt bei den zu Einbettungszwecken in Betracht kommenden Temperaturen nicht mit Paraffin mischt. Da aber das Wesen des Einbettens darin besteht, dass man die Objekte mit einer Masse erfüllt, welche nicht nur die Hohlräume ausfüllt, sondern in die Gewebe selbst eindringt, so erscheint als conditio sine qua non einer guten Einbettung nicht nur die völlige Entwässerung des betreffenden Objektes, sondern auch daran anschliessend die Durchtränkung desselben mit solchen Oelen — Vormedien, Vermittlungsmedien, früher Aufhellungsmitteln genannt —, welche ein möglichst intensives Einwirken, resp. Eindringen des Paraffin gewährleisten, ohne dabei das Objekt zu sehr zum Schrumpfen zu bringen. Das erstere Ziel wurde durch die Verwendung von Terpentinöl erreicht, welches lange Zeit hindurch als bestes Vormedium betrachtet wurde. Doch war damit der Uebelstand verbunden, dass zartere Objekte im Terpentinöl und Terpentinölparaffin eine starke Schrumpfung, Sprödigkeit und Brüchigkeit erhielten.

Diesem Uebelstande wurde abgeholfen durch die von W. GIESBRECHT[11]) und fast zu gleicher Zeit von O. BÜTSCHLI (mit F. BLOCHMANN)[12]) vorgeschlagene Verwendung von Chloroform als Vormedium.

Nach den Angaben von BÜTSCHLI kommt das mit absolutem Alkohol vollständig entwässerte Objekt in reines Chloroform, bis es vollkommen von diesem durchtränkt ist. Dann bringt man das Stück in eine bei 35° C gesättigte Lösung von Paraffin in Chloroform auf etwa ½—1 Stunde. Dann verdampft man in einem Uhrschälchen bei mässiger Temperatur alles Chloroform, bis das in dem Uhrschälchen befindliche Präparat in reinem Paraffin liegt. Schliesslich kann man das Objekt noch in reines, geschmolzenes Paraffin übertragen.

BÜTSCHLI hebt hervor, dass »die auf solchen Wegen erzielten Einbettungen die untadelhaftesten und gleichmässigsten« sind, die er »bis jetzt

erzielte«. »Objekt und einhüllendes Paraffin bilden eine durchaus einheitliche Masse, die sich ungemein gleichmässig schneidet. Das durch Verdampfen des Chloroforms restirende Paraffin besitzt ein sehr gleichmässiges Gefüge ohne Neigung zu krystallinischer Struktur, was die Anfertigung feiner Schnitte sehr begünstigt. Eine durchaus gleichmässige Erfüllung auch der feinsten Hohlräume des Objektes ist bei einigermassen sorgfältiger Manipulation leicht zu erzielen und eine störende Schrumpfung oder ein Brüchigwerden des Objektes nicht zu befürchten.«

Diese Methode wurde nun von W. Giesbrecht[11]) noch weiter ausgebildet, so dass nunmehr selbst für zartere Objekte wenig oder keine Schrumpfung zu befürchten ist.

Giesbrecht verfährt folgendermassen: man füllt in ein Cylinderglas eine Quantität absoluten Alkohol und lässt unter diesen mit einer Pipette das Oel oder Chloroform laufen; die beiden Flüssigkeiten lagern sich dann nach dem Princip der Schwere übereinander: der leichtere Alkohol über dem Chloroform. Man bringt nun das einzubettende Objekt in den Alkohol und hebt dann den überflüssigen Alkohol ab. Das Objekt beginnt nun in dem Grade, als es sich mit Chloroform durchtränkt, in das Chloroform einzusinken und lagert schliesslich, sobald der Austausch der Flüssigkeiten im Objekte vollendet ist, auf dem Boden des Gefässes.

W. Giesbrecht hebt hervor, dass manche der Objekte in dem schweren Chloroform nicht untersinken. In diesen Fällen genügt es, dem Chloroform z. B. etwas Schwefeläther zuzusetzen. Als Erkennungszeichen für den erfolgten Austausch der Flüssigkeiten kann auch das Verschwinden jener Lichtbrechungsfiguren gelten, die überall da auftreten, wo zwei Flüssigkeiten sich mischen (Senkmethode). Israel[13]) empfiehlt, das Präparat, wenn es auf den Boden gesunken ist, in eine neue, reichliche Menge von Chloroform zu bringen und dort 24 Stunden bis mehrere Tage zu lassen.

Durch das Giesbrecht'sche Verfahren war ein vorzüglicher Uebergang zwischen Alkohol und Paraffin gewonnen, der zugleich das Optimum an Schonung der Gewebe leistete. An Stelle des Chloroforms finden heutzutage noch viele andere Vormedien Verwendung, wie z. B. das bereits erwähnte Xylol, welches zuerst von Merkel[14]) in die histologische Technik eingeführt wurde und neben Toluol ein ganz gutes und billiges Vermittlungsmedium darstellt.

Bei Anwendung von Xylol und Toluol empfiehlt es sich, namentlich grössere Objekte aus dem absoluten Alkohol zuerst in Anilinöl zu bringen und dann erst in Xylol oder Toluol überzuführen. Das Anilinöl besitzt nämlich die Eigenschaft, sich bis zu einem gewissen Percentsatz mit Wasser zu mischen, vermag also aus den Objekten noch etwa zurückgebliebenes Wasser in sich aufzunehmen; ferner bewahren die vorher mit Anilinöl durchtränkten Stücke eine viel grössere Geschmeidigkeit und werden nie so brüchig wie solche, die längere Zeit nur in Toluol oder Xylol waren, da es dann genügt, selbst grössere Stücke nur 1 Stunde in diesen zu lassen (vergl. Suchannek[15]).

Anwendung von Anilinöl allein, ohne vorherige Entwässerung durch Alkohol wird von A. Ciaglinski[16]) empfohlen. Er bringt namentlich Objekte (etwa 3 Mm. dick) vom Centralnervensystem, wenn es sich um den Nachweis subtiler Veränderungen der Markscheiden oder Myelinkugeln handelt, nach kurzem Abspülen im Wasser auf 3—5 Tage in Anilinöl, aus diesem dann in Xylol und Xylolparaffin.

Ein von B. Lee[17]) empfohlenes Verfahren ist die Durchtränkung mit Cedernöl. Das entwässerte Präparat kommt in dickflüssiges Cedernöl und bleibt darin bis zum Durchsichtigwerden liegen; dann bringt er dasselbe entweder direkt in reines geschmolzenes Paraffin oder, wenn es sich um sehr zarte Präparate handelt, in ein Gemisch von Oel und Paraffin. Die Vorzüge dieser Methode bestehen in der schnellen Durchtränkung, die Gewebe werden nicht brüchig oder hart, das Eindringen des Paraffins erfolgt sehr schnell.

Derartige in Cedernholzöl eingelegte Objekte können im Oel beliebig lange liegen bleiben; sie werden nie brüchig oder überhart.

Um den Uebelständen, die sich namentlich beim Einbetten grösserer Objekte oder solcher, welche eine sehr derbe und dichte Textur haben, bei Chloroformanwendung zu begegnen, empfahl zuerst M. Holl[18]) die Anwendung von Toluol.

Toluol, ähnlich wie Xylol als Produkt bei der Steinkohlentheerfabrikation gewonnen, ist ein vorzügliches Lösungsmittel für Paraffin. Die Behandlung der Objekte mit Toluol gestaltet sich nach den Angaben Holl's folgendermassen:

Das Objekt wird in Alkohol absolutus gehärtet, kommt dann auf etwa einen Tag (kleine Objekte entsprechend kürzere Zeit) in Toluol und schliesslich aus letzterem direkt in das Paraffinbad. »Ein langsames Ueberführen der Objekte vom Alkohol in das Toluol oder die Präparate mit einer Quantität Toluol in das Paraffinbad zu bringen, ist absolut nicht nothwendig.« Im Paraffinbade verbleiben die Objekte ebenfalls einen Tag; für kleinere Stücke, namentlich wenn sie ein lockeres Gefüge haben, genügt kürzere Zeit.

Von Francotte[19]), welcher an Stelle des Terpentinöls oder Chloroforms auch Petroleum als Vormedium verwendet, wird, um die Struktur der Objekte möglichst zu schonen, vorgeschlagen, die einzubettenden Objekte nach dem Entwässern zuerst in ein Gemisch von 1 Volum Terpentinöl (Chloroform oder Petroleum) und 2 Volumen Alkohol absol., dann in 1 Vol. des Oels + 1 Volumen Alkohol, hierauf in 2 Volumen Oel und 1 Vol. Alkohol und schliesslich in reines Oel zu bringen.

An Stelle des Chloroforms empfiehlt Brass[20]) Benzol zu nehmen. Er will dadurch die Unannehmlichkeiten vermeiden, welche für den Organismus beim Arbeiten mit jenem verbunden sind; zugleich empfiehlt sich Benzol bei gleicher Leistungsfähigkeit der grösseren Billigkeit wegen mehr als Chloroform (siehe darüber auch P. Mayer[21]). Conser[22]) empfiehlt Toluol mehr wie Chloroform, das er nur für kleine Stücke anwendet.

Eine Reihe anderer Oele wurden von verschiedenen Autoren (z. B. Stieda[23]), Neelsen und Schiefferdecker[24]), Jordan[25]) auf ihre Brauchbarkeit in der mikroskopischen Technik untersucht. Viele davon eignen sich auch als Vormedien bei Paraffineinbettung mehr oder weniger, worüber auch bei B. Lee und P. Mayer[9]) sich Angaben finden.

Ist nun das Objekt mit einem der gebräuchlicheren Zwischenmedien — Chloroform, Benzol, Cedernöl, Xylol, Toluol etc. etc. — durchtränkt, was je nach der Grösse und Dichtigkeit des Objektes verschieden lange währt, so wird mit der eigentlichen Einbettung in Paraffin begonnen. In den meisten Fällen ist es rathsam, die Objekte nicht direkt aus dem Zwischenmedium in Paraffin zu bringen, sondern den Uebergang vom ersteren zum letzteren durch eine vorher eingeschaltete Mischung von Paraffin und dem betreffenden Zwischenmedium schonender zu gestalten. Bei Gebrauch des Cedernöls, sowie auch bei kleinen, wenig zarten Objekten kann von dieser verlangsamten Methode Abstand genommen werden.

Es giebt verschiedene Vorschriften für diese verlangsamte Paraffineinbettungsmethode, von denen hier die gebräuchlichsten (siehe auch B. Lee und P. Mayer[9]) angeführt seien:

P. Mayer[9]) verfährt bei Einbettung in Benzol folgendermassen:

Er bringt die Objekte aus dem absoluten Alkohol schneller oder langsamer in Benzol, wechselt dieses 1- oder 2mal und setzt dann bei Zimmertemperatur einige Stückchen Paraffin zu. Nach einigen Stunden — bis zu 18 — stellt er die Objekte mit dieser Paraffinlösung in einem offenen Gefässe in das kalte Wasserbad, erwärmt dieses ganz allmählich auf 60°, wobei in dem Masse, als Benzol verdampft, geschmolzenes reines Paraffin zugegossen wird. Schliesslich kommt das Objekt in eine neue Quantität ganz reinen Paraffins.

Bei Chloroformeinbettung erwärmt Giesbrecht[11]) dieses mit dem darin befindlichen Objekte bis zum Schmelzpunkt des verwendeten Paraffins, setzt dann dieses allmählich zu und lässt die Mischung so lange in der Wärme, bis alles Chloroform verdunstet ist. Bei Gebrauch des Chloroforms beim Einbetten muss sehr darauf gesehen werden, dass alles Oel

aus dem Paraffin, resp. Objekte entfernt wird; schon die geringste Spur desselben genügt, um das Paraffin schlecht schneidbar zu machen.

Eine andere Methode besteht darin, dass man die Objekte in ansteigend koncentrirtere Mischungen von Paraffin und dem benutzten Zwischenmedium bringt, schliesslich in ganz reines Paraffin überführt, das bei einer bestimmten Temperatur flüssig gehalten werden muss. Bei dieser Procedur ist es nun von höchster Wichtigkeit, das Oelparaffingemisch wie auch das reine Paraffin im Verlaufe der Einwirkung der hohen Temperatur möglichst vor dem Eindringen von Wasserdämpfen, das Objekt aber vor zu grossen Temperaturschwankungen zu schützen. Daher ist jede Ueberhitzung des Paraffins zu vermeiden, da dadurch der Schmelzpunkt des Paraffins erhöht wird, d. h. das Paraffin härter wird; andererseits ist stets im Auge zu behalten, dass bei höherer Temperatur zartere Gewebe mehr leiden als bei niederer.

Um diese Uebelstände zu vermeiden, verliess man bald die Gepflogenheit, das einzubettende Objekt im Paraffin auf einem einfachen Wasserbade zu erwärmen. Man benutzte zunächst einfache Wärmekästen (Thermostaten) oder wie den von KOSSMANN[26]) angegebenen. Derselbe wurde mit Gas geheizt und war mit einem KEMP-BUNSEN'schen Gasregulator versehen.

BLOCHMANN[27]) beschreibt die bereits im Jahre 1884 im Heidelberger zoologischen Institute benutzten Wärmekästen, welche nunmehr allgemein mit Doppelwandung, mit Wasser ausgefülltem Zwischenraum, Gasregulator in den verschiedensten Modifikationen und Systemen im Gebrauche sind.

Während die Thermostatkästen im wesentlichen keine Verschiedenheiten im Principe aufzuweisen haben, zeigen sie in Form und Ausstattung oft die grössten Differenzen. Es werden von verschiedenen Firmen (z. B. H. ROHRBECK in Berlin NW., Karlstrasse 24; F. u. M. LAUTENSCHLAEGER in Berlin N., Ziegelstrasse 24; KLÖNNE und MÜLLER in Berlin NW., Luisenstrasse 49 u. a. m.) derartige Apparate (Fig. 108) fabricirt, in runder, viereckiger Form, mit Asbest- oder Filzbekleidung, um die Wärmestrahlung möglichst zu vermindern; für Füllung der Doppelwandung mit Wasser oder Glycerin, für Gas-, Petroleum-, Spiritus-, elektrische oder beliebige Heizung.

Für Regulirung der Wärme sind eine grosse Anzahl von Apparaten, sogenannte »Thermoregulatoren«, angegeben worden, welche hauptsächlich auf dem Principe beruhen, die Ausdehnung von Quecksilber oder Gasen etc. bei verschiedenen Temperaturgraden für die Regulirung der Gaszuströmung, resp. der Heizquelle, zu benützen. Es ist der Technik gelungen, die Konstanz der Temperaturen so zu fixiren, dass höchstens Schwankungen von 0,02° C. auftreten (z. B. bei dem von SOXHLET-ROHRBECK konstruirten Thermoregulator). Dieser, sowie die Regulatoren von MIQUEL[28]), ALTMANN[29]), NOVY[30]), BUNSEN[31]), REICHERT[31]), SOXHLET[31]), LOTHAR MEYER[31]) etc. sind für Gas als Wärmequelle konstruirt; für Petroleum wurden solche von SAHLI[32]), ALTMANN[33]), SCHEPILEWSKY[34]), KARAWAIEW[35]) etc. — dieser Apparat ist auch für Benzin zu gebrauchen — angegeben. Für elektrische Wärmeregulirung konstruirten SACHAROFF[36]), KURTSCHINSKI[37]), LAUTENSCHLAEGER[38]), SCHEIBLER[31]), HANFLAND[39]) u. a. Regulatoren.

Ich gebe (Fig. 109) die Abbildung eines Gasregulators (von REICHERT) wieder, dessen Konstruktion princip leicht aus der Figur ersehen werden kann. An einer nach oben und unten sich etwas erweiternden Glasröhre sind rechts *(B)* und links *(S)* in bestimmtem Abstand zwei Glasröhren angeschmolzen. In den oberen, ausgeweiteten Theil der Röhre kann eine kürzere T-förmige Röhre (siehe Fig. *A*) eingesteckt (auch eingekittet) werden, deren längerer, in die grössere Glasröhre eingeschobener Theil spitz ausgezogen und besser schief abgeschnitten ist und nur in ihrem mittleren Theil der äusseren Röhre dicht anliegt; ausserdem ist an derselben, etwa in der Mitte, ein kleines Loch *a* (Nothöffnung) eingebohrt. Die längere Röhre ist, ebenso wie das kurze Armstück *(S)* links, bis zum Beginn der erweiterten Stelle mit Quecksilber (in der Figur schwarz) angefüllt. Das

Armstück *S* links trägt in einer eingekitteten Schraubenmutter eine Schraube, die in das Quecksilber taucht und natürlich tiefer eingeschraubt die Quecksilbersäule im langen Rohrschenkel steigen, herausgedreht fallen macht — es ist die sogenannte Einstell- oder Regulirschraube. Der kurze, horizontale Querbalken der T-förmigen Röhre *(A)* steht am montirten Apparat auf der einen Seite durch einen Gummischlauch mit der Gasleitung in Verbindung. Das Gas strömt dann durch die untere Oeffnung des senkrechten Schenkels der T-förmigen Röhre sowie auch durch die Nothöffnung *(a)* in den oberen, sich erweiternden Raum der langen Röhre und tritt durch das in der Figur 108 rechts sichtbare, angeschmolzene Glasrohr *(B)* durch einen Gummischlauch zu einem Gasbrenner. Der ganze, so montirte Apparat wird nun etwa bis zur Hälfte in den Brutschrank eingesteckt (siehe Fig. 107). Durch Höher- oder Tieferstellen der Quecksilbersäule mittels der Regulirschraube kann man nun mehr oder weniger Gas der Flamme zuströmen lassen, die den Wärmeschrank heizt und die Temperatur auf einer bestimmten Höhe erhält, resp. einstellt. Steigt nun im Wärmeschrank

Fig. 107.

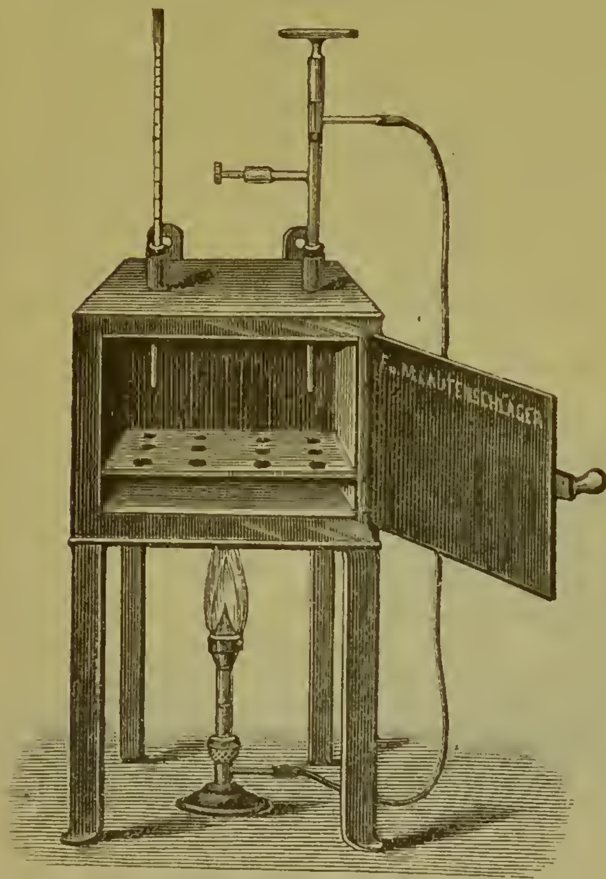
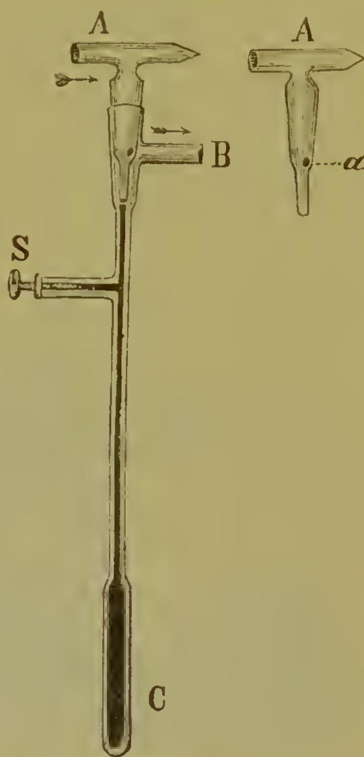


Fig. 108.

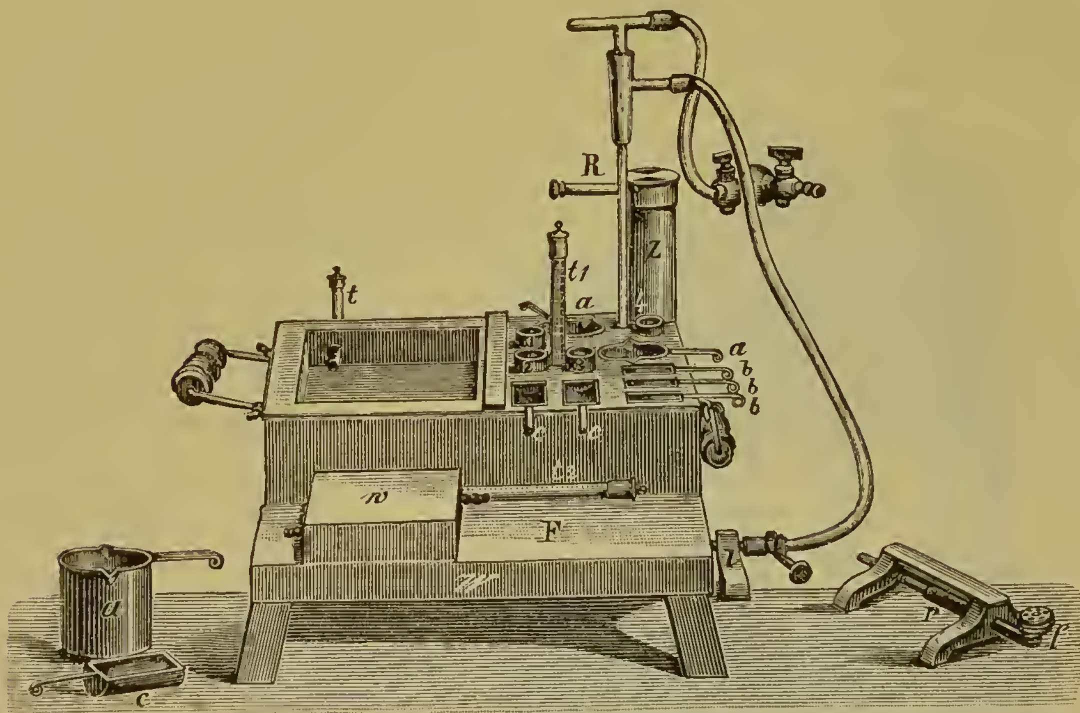


die Temperatur z. B. infolge gesteigerten Gasdruckes in der Leitung, so dehnt sich das Quecksilber in der Röhre aus und versperrt mehr und mehr Raum, so dass immer weniger Gas dem Brenner zuströmen kann, wodurch die Flamme kleiner und damit auch die Temperatur im Schranke niedriger wird. Sollte das Quecksilber schliesslich die ganze untere Oeffnung des inneren Rohres versperren, so kann immer noch durch die sogenannte Nothöffnung so viel Gas zum Brenner zuströmen, um dort eine kleine Flamme zu unterhalten. Beim Sinken der Temperatur im Brutschrank sinkt auch die Quecksilbersäule, und nunmehr kann bei immer mehr frei werdender Oeffnung der inneren Glasröhre mehr Gas zur Flamme strömen, wodurch schliesslich die Temperatur im Schranke wieder in die Höhe geht.

So einfach diese Gasregulatoren in ihrer Konstruktion und ihrem Principe sind, ebenso komplicirt und dadurch leider oft nicht sehr verlässig sind noch meist die Thermoregulatoren für Petroleum und elektrische Heizung. Ich verzichte hier auf die ausführliche Beschreibung eines derselben und verweise im übrigen auf das oben angegebene Verzeichniss der Konstrukteure von solchen Apparaten, von denen der wichtigsten, welche mir zugänglich waren, Erwähnung gethan ist. Besonderen Hinweis verdient an

dieser Stelle noch das von P. MAYER gemeinsam mit W. GIESBRECHT und G. C. J. VOSSMAYER[40]) konstruirte und von R. JUNG in Heidelberg angefertigte sogenannte »Neapler Wasserbad«, das allen Anforderungen, welche die feinere mikroskopische Technik an einen derartigen Apparat stellen kann, gerecht wird (siehe Fig. 109). Das Wasserbad *W* erhebt sich in zwei Staffeln, ist aus Messing konstruirt und ruht auf vier Füsschen, so dass ein kleiner Gasbrenner nach BUNSEN *(r)* untergeschoben werden kann. Die obere Stufe des Wasserbades zeigt an der einen Ecke eine verschliessbare Röhre angelötet *(z)*, die zur Füllung mit destillirtem Wasser dient. In die obere Etage sind auf der rechten Seite verschiedene Vertiefungen eingearbeitet, in welche Glastuben und Metallgefässe, verzinnt oder vernickelt (Messing wird von Terpentinöl angegriffen), genau eingepasst sind. Die ganze linke Seite ist zu einer rektangulären Wanne vertieft, welche (auch mit einem Glasdeckel verschliessbar) als Luftbad Verwendung finden kann. Die Glastuben *1, 2, 3* und

Fig. 109.



4, ebenso wie die Metallgefässe *a, b* und *c* dienen zur Aufnahme des Zwischenmediums, der Mischung des Paraffins mit einem solchen und für reines Paraffin. *t* ist ein knieförmig gebogenes, in das Luftbad eingefügtes Thermometer, t_1 ein Thermometer, das ebenso wie der REICHERT'sche Thermoregulator in das Wasserbad eingesenkt ist.

Das auf der unteren Stufe *F* befindliche Kästchen *w* ist ein kleines Wasserbad, das vollständig selbständig und abhebbar ist. Es kann Verwendung finden zum Einbetten von Präparaten mit der Lupe, indem durch die beiden Oeffnungsrohre rechts und links Wasser eingefüllt wird. Man setzt dann das Kästchen zur Erwärmung auf die Plattform *F*, orientirt das Objekt und kann dann durch dasselbe kaltes Wasser hindurch leiten. Um die Temperatur ablesen zu können, ist ein kleines Thermometer t_2 in das Kästchen eingefügt.

Um sehr grosse Objekte oder solche von grosser Konsistenz in möglichst kurzer Zeit einzubetten wurde die Paraffindurchtränkung unter vermindertem Luftdruck empfohlen. Dadurch ist die Durchtränkung

selbst sehr grosser Stücke nicht nur in wenigen Minuten möglich, sondern es wird auch ein Zusammenfallen der Gewebe mit grossen Hohlräumen verhindert. Bei dieser Art von Einbettung muss nur Sorge getragen werden, dass das Paraffin unter der Luftpumpe flüssig bleibt. Es wurden für diese Art von Einbettung in Paraffin hauptsächlich zwei Methoden angegeben. Die eine stammt von HOFFMANN[41]), welcher das Vakuum durch eine Wasserluftpumpe herstellt. Das Gefäss mit dem Paraffin steht in einem Exsiccator, der in einem Wasserbade warm gehalten wird. FRANCOTTE[42]) hingegen verwendet den Wasserdampf zur Herstellung des Vakuums oder die Entwicklung und darauf folgende Kondensirung von Aetherdämpfen.

Das im Handel vorkommende reine Paraffin zeigt sehr verschiedene Schmelzpunkte. Dieselben bewegen sich bei den für Einbettungszwecke anzuwendenden Sorten zwischen 40° und 62° C. Innerhalb dieser Temperaturen können alle möglichen Abstufungen im Schmelzgrade dadurch erzielt werden, dass man zwei Sorten, z. B. bei 52° und 56° schmelzbares zusammenmischt und dadurch solches von ca. 54° Schmelzpunkt erhält.

Für die Auswahl des zu verwendenden Paraffins lassen sich keine bestimmten Regeln aufstellen. Hierfür kommen hauptsächlich drei Punkte in Betracht:

1. Die im Zimmer herrschende Temperatur, bei welcher das eingebettete Stück geschnitten werden soll;
2. die Beschaffenheit des einzubettenden Objekts, und
3. die gewünschte Schnittdicke.

Von diesen Gesichtspunkten aus kann als allgemeine Regel folgendes festgestellt werden:

B. LEE[43]) empfiehlt Paraffin von 45° C. Schmelzpunkt zu nehmen, wenn die Temperatur im Laboratorium 15—17° C. beträgt. ISRAEL[13]) empfiehlt zu feineren Schnitten (unter 5 μ) Paraffin von höherem Schmelzpunkt (zwischen 54—60° C.), während er für Schnitte von 5—10 μ Paraffin von 50—54° C. anwendet. Diese Angaben gelten, wenn es sich um Paraffin handelt, das auf sogenannten Schlittenmikrotomen (JUNG-THOMA-MIEHE-Mikrotome) geschnitten werden soll; für die sogenannten Schaukelmikrotome, sowie das MINOT-ZIMMERMANN'sche Modell empfiehlt sich die Anwendung von viel härterem Paraffin. Im allgemeinen lässt sich sagen, dass ein um so härteres Paraffin angezeigt ist, je dünner die Schnitte werden sollen (P. MAYER[9]). Für sehr grosse Schnitte, wie sie z. B. STRASSER[44]) von 10×15 Cm. Fläche anfertigte, empfiehlt derselbe Paraffin von 45° C. Schmelzpunkt zu nehmen.

BRASS[20]) empfiehlt nicht ganz reines Paraffin zu nehmen, sondern glaubt die besten Resultate mit solchem zu erzielen, welches als unreines verkauft wird; auch lässt er dasselbe vor dem Gebrauche jahrelang liegen. Es sollen sich dann in demselben gewisse Substanzen zersetzen und die Masse die Eigenschaft verlieren, zu krystallisiren.

SPEE[45]) empfiehlt (speciell für Erzielung von Schnittbändern) das sogenannte überhitzte Paraffin. Er nimmt reines Paraffin vom Schmelzpunkt 50° C. und erwärmt dasselbe so lange, bis unangenehm riechende, weisse Dämpfe aufsteigen. Durch dieses Verfahren nimmt die Masse eine braungelbe, dem gelben Wachse oder Honig ähnliche Farbe an und zeichnet sich durch grosse Homogenität aus, ist vollkommen frei von Luftblasen und fühlt sich seifig und fettig an. Ein wesentlicher Vorzug dieses Paraffins besteht darin, dass die Schnitte beim Mikrotomiren mit ihren Rändern leicht und fest verkleben und so ohne Schwierigkeit Schnittbänder hergestellt werden können.

Beim Einbetten von Objekten in Paraffin empfiehlt es sich, das Paraffin nicht direkt so zu verwenden, wie es im Handel vorkommt, sondern

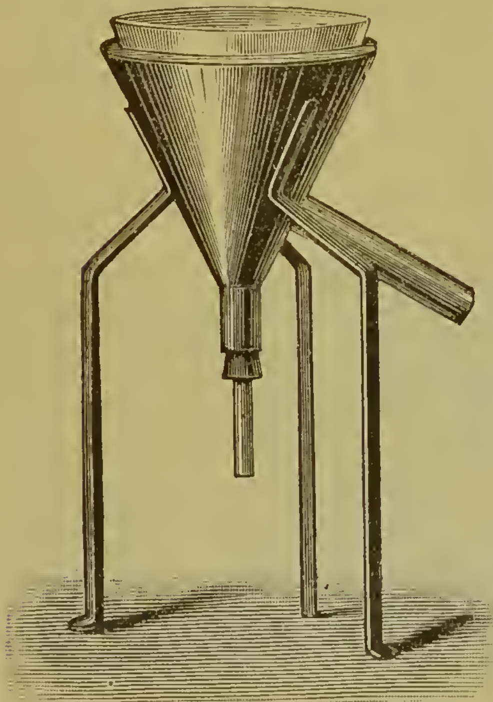
es ist rathsam, dasselbe vorher wegen der meist vielfach in demselben eingeschmolzenen Verunreinigungen zu filtriren.

Zu diesem Zwecke werden sogenannte Heisswassertrichter in verschiedener Konstruktion, z. B. der von FRANCOTTE[46]) angegeben, die im wesentlichen jenen gleichen, wie sie in der Bakteriologie zum Filtriren von Nährmedien verwendet werden.

Ein solcher Trichter auf einem Dreifuss ist in nebenstehender Figur 110 abgebildet. Die Konstruktion und Anwendungsweise desselben ist leicht ersichtlich. An einem doppelwandigen Trichter (aus Messing, Weissblech etc.) ist ein hohles, rundes Ansatzstück angelöthet. Durch eine Oeffnung am flachen oberen Rande wird der hohle Trichter und sein Ansatzstück mit Wasser gefüllt. In den Metalltrichter wird ein anderer gläserner oder besser ein solcher aus Porzellan gesteckt und in diesen dann das Paraffin entweder in ein Papierfilter oder über Glaswolle gebracht. Man erhitzt dann das Wasser, bis das Paraffin geschmolzen ist, indem man unter das Ansatzstück eine Heizflamme stellt.

In einem solcherart vorbereiteten Paraffin verbleiben die aus dem Paraffinzwischenmedium genommenen Objekte je nach Grösse 1—3 Stunden im Thermostaten. Nach dieser Zeit sind dieselben vom reinen Paraffin — das man bei grösseren Stücken oder beim Einbetten von mehreren wechseln kann — vollkommen durchtränkt; die Objekte können nun »ausgegossen« oder »eingeschmolzen« werden. Man giesst zu diesem Behufe das reine Paraffin in eine Form. Als solche können Papierkästchen, Metall- oder Glaswinkel, Glasklötze, Kästchen aus Stanniol, Uhrschälchen etc. verwendet werden.

Fig. 110.



Geeignete Papierkästchen stellt man sich her, indem man sich aus mittelstarkem Papier ein Stück in Form eines Rechteckes abschneidet, die Langseiten etwa 1 Cm. umbiegt und dann, nachdem man diese aufgeklappt, die Kurzseiten um 2 Cm., wodurch ein rechteckiges centrales Feld gebildet wird. Man legt dann die Langseite in ihrer Biegungsstelle um, biegt die Ecken so nach hinten zurück, dass die Einbiegung der Langseite jene der Kurzseite deckt. Dieselbe Procedur wird auch mit der anderen Seite ausgeführt, worauf zuerst die eine Kurzseite aufgerichtet wird; man biegt dann die zu beiden Seiten sich zeigenden Papierecken nach aussen um, schlägt das überstehende Theil der Kurzseite ein, so dass damit die beiden eingebogenen Ecken fixirt sind und verfährt in gleicher Weise auf der anderen Seite. (Vergl. über die Herstellung solcher Kästchen RAWITZ[47]) und LEE, MAYER.[9]) Das Kästchen wird dann auf eine erwärmte Metallplatte gestellt, auf der heisses Paraffin aufgegossen ist; dieses durchtränkt den Boden des Kästchens, so dass dasselbe beim Erkalten fest auf der Metallplatte fixirt ist. Das weitere Verfahren siehe pag. 1077.

Einfacher und auch praktischer gestaltet sich das Ausgiessen bei Anwendung von Metall- oder Glas-Rahmen oder -Winkeln.

Erstere wurden zuerst von ANDRES, GIESBRECHT und MAYER[48]) aus Messing hergestellt empfohlen, das eine dünnere Bearbeitung zulässt als das vordem verwendete Schriftmetall. Die Rahmen haben die Form rechter Winkel.

Vor dem Gebrauche wird die Innenseite der Metallrahmen mit Glycerin bestrichen, ebenso wie eine Glasplatte, auf welche dieselben gesetzt werden. Diese wird vorher etwas erwärmt, so dass das eingegossene Paraffin am Boden nicht gleich erstarrt. Durch Verschieben der beiden Metallrahmen gegeneinander ist es möglich, den von den Rähmchen eingeschlossenen Raum in gewünschter Weise zu vergrössern oder zu verkleinern.

Die von FRANKL[49]) empfohlenen Glasklötze sind nach einem ähnlichen Principe, wie dasselbe bei den Metallrahmen Anwendung gefunden, hergestellt, ohne dabei aber so sicher und praktisch in ihrer Verwendung zu sein wie diese.

Viel geübt ist das Einschmelzen der Objekte in Uhrschälchen und bietet namentlich dann, wenn es sich um kleinere Präparate handelt, grosse Vortheile. RHUMBLER[50]) und Graf SPEE[45]) verfahren hierbei in der Weise, dass ein Uhrschälchen so mit einem Tropfen Nelkenöl eingerieben wird, dass die Innenseite desselben von einer dünnen Oelschichte überzogen ist. Auf diese Oelschichte giesst man dann das flüssige Paraffin, wobei es sich empfiehlt, das Schälchen vorher leicht zu erwärmen. Statt des Oeles räth LEE[51]) und auch RHUMBLER[52]) Glycerin zum Einreiben zu nehmen. Wird dann das Paraffin zum Erstarren gebracht, so lässt es sich, vollkommen erkaltet, leicht mit den eingeschmolzenen Objekten herauslösen, wenn es nicht schon im kalten Wasser von selbst abgegangen ist.

Bei allen diesen Einschmelzungsmethoden ist eine absolut durchgreifende und schnelle Abkühlung des Paraffins unbedingt nothwendig, weil bei langsamer Abkühlung sehr leicht Luftblasen in demselben entstehen und das Paraffin durch Krystallisation ein sehr lockeres Gefüge bekommt, ein Umstand, der das Schneiden solcher Paraffinblöcke sehr schwierig oder ganz unmöglich macht.

Ist daher das Paraffin in das als Form benützte Papierkästchen etc. eingegossen, das Objekt hierauf hineingelegt, so wird die Form, ohne die Lage des Objektes zu verschieben, vorsichtig in eine Wanne mit kaltem Wasser gebracht und hier etwa bis zur halben Höhe eingetaucht. Hat sich dann an der Oberfläche des flüssigen Paraffins eine Haut von festem Paraffin gebildet, — was sich durch vorsichtiges Blasen beschleunigen lässt — so senkt man das Kästchen tiefer ins Wasser ein und lässt dann von einer Ecke aus das Wasser über die Oberfläche des Paraffins laufen. Zusatz von Eis zum Wasser ist zu empfehlen. Nach ca. 30 Minuten sind mittelgrosse Paraffinblöcke soweit erstarrt, dass sie weiterbehandelt werden können. Selbstverständlich muss vor dem Schneiden das Papier der verwendeten Papierkästchen vom Paraffin abgezogen werden, was meist leicht geht; Metall-Glasrähmchen, die als Unterlage zu denselben benützte Glas- oder Metallplatte lassen sich immer ohne Schwierigkeiten entfernen, wenn die einzelnen Stücke vorher, wie oben angegeben, gut mit Glycerin eingerieben waren.

Gerade für Einbettungszwecke ist der von P. MAYER[40]) angegebene kleine Tisch (s. Fig. 109, pag. 1074) am sogenannten »Neapler Wasserbad« von grossem praktischen Nutzen. Derselbe erlaubt, mit warmem Wasser gefüllt, das Paraffin in der Einbettungsform — wenigstens am Boden — längere Zeit flüssig zu erhalten. Mit kaltem Wasser hierauf angefüllt oder durchströmt kann man die tieferen Paraffinschichten zum Erstarren bringen, ohne dabei genöthigt zu sein, die Einbettungsform vom Platze zu nehmen und dadurch in Gefahr zu kommen, das Objekt eventuell aus seiner Stellung zu bringen.

Für die Orientirung von Präparaten, d. h. exakte Einstellung für eine gewünschte Schnittrichtung — was namentlich bei embryologischen Objekten von grösster Bedeutung ist — existiren eine grosse Anzahl von mehr oder minder praktischen Vorschlägen, von welchen hier einige kurz skizzirt sein mögen.

So giebt SELENKA[53]) einen solchen Apparat in Form einer Glasröhre an, in deren Wand sich an einer Stelle eine muldenförmige Einsenkung befindet. Die Röhre wird während des Einbettens von warmem Wasser durchströmt, bis man dem Objekte die gewünschte Lage gegeben hat. Ist

das geschehen, so leitet man an Stelle des warmen Wassers kaltes durch die Glasröhre und bringt so das Paraffin, ohne den Apparat von der Stelle bringen zu müssen, zum Erstarren. Ein Hauptvortheil des Apparates besteht auch darin, dass man imstande ist, die Orientirung unter der Lupe vorzunehmen.

Einen im Principe ähnlichen Apparat beschreibt ANDREWS.[54])

HENKING[55]) orientirt kleine Objekte, indem er auf einen Objektträger einen Glasring aufsetzte und in diesen Raum flüssiges Paraffin eingoss. Das zu orientirende Objekt wurde dann unter der Lupe mit einer erwärmten Nadel in die gewünschte Lage gebracht und so lange kontrollirt, bis es durch das am Boden erstarrende Paraffin fixirt war.

KINGSLEY[56]) lässt die mit Paraffin durchtränkten Objekte (Eier) einfach in einem mit flüssigem Paraffin gefüllten Uhrschälchen zu Boden sinken und schneidet nach dem Erkalten die günstig gelegenen heraus, während die übrigen wieder in geschmolzenes Paraffin kommen und von neuem in der obigen Weise behandelt werden.

Besonderen Vortheil gewährt diese Methode dann, wenn sie bei Objekten — z. B. Eiern von gewissen Arthropoden — angewendet wird, die stets mit dem Embryo nach unten im flüssigen Paraffin zu Boden sinken (LÉCAILLON[57]).

Nach einer von FIELD und MARTIN[58]) speciell für mikroskopisch kleine Objekte empfohlenen Methode bringt man das einzubettende Objekt mit einem Tropfen des Einbettungsgemisches auf ein rechteckig zugeschnittenes Gelatineplättchen, orientirt dann dasselbe nach den Rändern der Gelatineplatte oder nach einer an der Unterseite der Platte angebrachten Marke. Das durch Kollodium in seiner Lage fixirte Objekt wird dann in gewöhnlicher Weise in Paraffin eingebettet. Vor dem Schneiden entfernt man die Gelatine im lauwarmen Wasser, so dass dann das Objekt dicht an der Oberfläche gelegen ist.

PATTEN[59]) nimmt anstatt der Gelatineplatten Papierstreifen mit parallelen, sich rechtwinkelig kreuzenden, erhabenen Streifen. Die Abdrücke dieser Rippen oder Streifen erscheinen dann nach der Einbettung auf dem Paraffinblock. Die Orientirung erfolgt in einem Tropfen Kollodium mit Nelkenöl. Aehnlich verfährt WOODWORTH[60]) und KNOWER.[61]) SCHAUDINN[62]) benützt zum Orientiren kleiner Objekte das von ihm angegebene Mikroaquarium und bringt in dasselbe einen feinfaserigen Verbandstoff (Penghawar-Djambie) zugleich mit Xylol. In eine Grube desselben wird nun das Objekt eingelegt und dort hinreichend in der gegebenen Lage fixirt, bis es durch Xylol in Paraffin eingebettet ist. Der feine Stoff kann zugleich mit dem Objekte geschnitten werden.

RHUMBLER[52]) färbt kleine Objekte vor dem Einbetten, um sie für Orientirungszwecke besser sichtbar zu machen, mit Eosin, das sich nach dem Schneiden leicht wieder in Alkohol ausziehen lässt; Einschmelzung der Objekte in Uhrgläschen siehe oben pag. 1077.

SAMTER[63]) spannt ein Stückchen Eihaut von einem Hühnerei auf einem Metallrahmen und sticht in dasselbe mit einer Nadel etwa in der Mitte ein Loch. An die Unterseite des Loches wird etwas Fischleim angestrichen, das Ganze in 50%igen Alkohol gebracht, wo das zu orientirende Objekt in das Loch gelegt und durch den Fischleim in gewünschter Lage gehalten wird. Man bringt dann das Präparat mit Rahmen oder ausgeschnitten auf dem Stückchen Eihaut in stärkeren Alkohol, wo der Fischleim erstarrt. Das so fixirte Objekt wird dann mit der Eihaut in Paraffin eingebettet; die Ränder der Eihaut dienen als Marken für die spätere Orientirung beim Schneiden.

HOFFMANN[64]) bettet die zu orientirenden Objekt ein Kollodium-Nelkenöl ein und bringt sie mit einem Tropfen dieses Gemisches auf einen Glasstreifen.

auf welchen man mit einer Gravirnadel beliebig feine Orientirungslinien ziehen kann. Nachdem die Objekte entsprechend orientirt sind, kommen dieselben in Xylol oder Benzol etc., wodurch das Nelkenöl entfernt und das Kollodium zu einer glashellen Masse erstarrt wird. Um die äussere Form des Objektes noch schärfer hervortreten zu lassen, empfiehlt HOFFMANN[65]) undurchsichtige, in Kollodium-Nelkenöl eingebettete Objekte auf dem Glasstreifen unter Zusatz von 90%igem Alkohol zu orientiren. Während das Nelkenöl Kollodium in Lösung hält, bewirkt der 90%ige Alkohol eine Härtung desselben, so dass unter dem Einfluss dieser beiden in ihrer Wirkung sich entgegenarbeitenden Reagentien genügend Zeit bleibt, die Orientirung zu bewerkstelligen. Im Alkohol tritt die plastische Gestalt des Objekts scharf hervor, namentlich bei vorausgegangener Färbung.

Hier verdienen noch zwei speciell zu Orientirungszwecken von W. NOACK[66]) und H. JORDAN[67]) konstruirte Apparate Erwähnung. Ersterer bettet die Objekte in Paraffin ein und schmilzt dann den Paraffinblock auf einem Stifte auf, der in der Diagonale an der Ecke eines ganz exakt gearbeiteten Metallwürfels eingelassen ist. Das Objekt kann nun durch entsprechendes Drehen in drei zu einander senkrechten Richtungen eingestellt, resp. geschnitten werden.

JORDAN[67]) konstruirte ein Kästchen, dessen Boden eine runde Oeffnung hat, in die vollkommen dicht eine Kugel eingepasst ist. Die Kugel ragt nicht über den Aequator hinaus über den Boden empor. Das zu orientirende und einzubettende Objekt wird mit Kollodium auf der Kugel befestigt und durch entsprechende Drehung derselben orientirt. Die Kugel wird dann durch eine zweite Platte, die unter der Bodenplatte beweglich ist, fixirt. Die Einbettung in Paraffin erfolgt dann direkt in dem Kästchen, das zu diesem Behufe in den Thermostaten gebracht werden kann.

Die Behandlung eines in Paraffin einzubettenden, fixirten und eventuell im Stücke vorgefärbten Objektes gestaltet sich kurz zusammengefasst nach folgendem Schema:

GIESBRECHT (u. ISRAEL)	P. MAYER	APÁTHY	ISRAEL
1. Alkohol absol. 2. Alkohol absol. überschichtet von Chloroform (ev. Aetherzusatz) 3. Chloroform (bis 24 h) 4. Chloroform-Paraffin (T)* 5. Reines Paraffin (T) * T = Thermostat.	Alkohol absol. Benzol (1—2mal wechseln) Benzol-Paraffin (bis 18 h) Benzol-Paraffin (allmählich unter Paraffinzusatz erwärmen) Reines Paraffin (T)	Alkohol absol. Cedernöl überschichtet von Alkohol absol. (bis 1 h) Cedernöl (bis mehrere Tage) Paraffin überschichtet von Chloroform Chloroform-Paraffin (1—3h T) Paraffin (1/2—2 h T)	Alkohol absol. 1 Th. Alkohol abs. + 2 Th. Xylol. Xylol Xylol + Paraffin (12 h — 24 h) Paraffin (T)

Ausser reinem Paraffin werden aus verschiedenen Gründen Mischungen desselben, hauptsächlich mit Wachs, Vaseline etc., empfohlen. So nimmt SCHULGIN[68]) als Einbettungsmasse eine Mischung von Paraffin (Schmelzpunkt 55° C) mit Ceresin und Vaselin. Der Ceresinzusatz kann beliebig sein und soll das Paraffin zäher machen; will man besonders weiches Paraffin, so empfiehlt sich der Vaselinzusatz.

BRASS[20]) setzt 100 Theilen Paraffin etwa 4—6 Theile weisses Wachs zu. Dadurch lassen sich die Objekte vorzüglich schneiden, die Schnitte sind dann weich, dehnsam und brechen nicht.

WALSEM vermeidet das von ihm beim Giessen grosser Paraffinblöcke beobachtete Auftreten zahlreicher Lücken dadurch, dass er dem reinen

Paraffin eine kleine Menge Wachs (Cera flava), etwa 5%, zusetzt. Er hält ausserdem »diesen Zusatz für wichtig, weil der Schnitt dadurch eine homogene Beschaffenheit erhält und sonst beim Schneiden inkohärenter Theile sich Lücken bilden können an solchen Stellen, wo sie eine bedeutende Störung der Schnittbildung bedingen«.

Sonstige Einbettungsmittel (mit Ausschluss von Celloidin).

Die übrigen Einbettungsmittel, welche früher als Ersatz des Paraffins gedient haben und zum Theil noch als solche dienen, lassen sich in zwei grosse Gruppen theilen: 1. in kalt, 2. in warmflüssige.

1. Zur Gruppe der kaltflüssigen Einbettungsmassen zählen hauptsächlich: Gummi, Gummiglycerin, Glycerinleim, Gelatine und Hühnereiweiss.

Gummischleim wurde nach Klebs[1]) zuerst zum Einbetten von Heidenhain angewendet, und zwar koncentrirte Lösungen von Gummi arabicum. Die Objekte wurden in die Lösung längere Zeit eingelegt und darin so lange belassen, bis sie vollkommen durchtränkt waren. Vor dem Schneiden erzielte man die nöthige Konsistenz entweder durch Erhärten an der Luft oder durch Einlegen in 50—70%igen Alkohol. Klebs[1]) selbst empfiehlt als Einbettungsmittel den Glycerinleim. Die Objekte kommen aus Wasser in eine koncentrirte Lösung von Hausenblase in Glycerin und werden in Alkohol nachgehärtet.

Diese Methode wurde von Kaiser[69]) modificirt, der an Stelle der Hausenblase Gelatine zu nehmen empfiehlt. Seine Vorschrift lautet: 1 Th. Gelatine, 6 Th. Aq. dest., 7 Th. Glycerin; dem Ganzen wird etwas Karbolsäure zugesetzt und die Masse dann durch Leinwand filtrirt.

Andere Gelatinemischungen wurden von Gerlach[70]) und Nicolas[71]) angegeben (vergl. B. Lee und F. Henneguy[43]).

Von Stevenson[72]) wird Tragantgummi mit Glycerin als Einbettungsmittel empfohlen.

Hühnereiweiss wurde schon im Jahre 1862 von E. Neumann[73]) als Einbettungsmittel für den Glaskörper empfohlen. Im Jahre 1875 theilte dann Bresgen[74]) ein Einbettungsverfahren mit, nach dem frisches Hühnereiweiss gut zerschnitten und je 24 Ccm. desselben mit 2,5 Ccm. einer 10%igen Sodalösung versetzt werden. Zu 26 Ccm. Eiweiss werden dann 9 Ccm. geschmolzener Talg zugesetzt und mit der Eiweisssodalösung zusammen tüchtig geschüttelt. Die einzubettenden Objekte kommen aus Wasser in diese Masse und das Ganze wird dann zum Erhärten in starken Alkohol gebracht.

Im Jahre 1876 theilten Fleischer[75]) und Calberla[76]) Methoden für Eiweisseinbettung mit. Letzterer empfiehlt für kleinere Objekte frisches Hühnereiweiss 15 Th. versetzt mit 1 Theil kohlensaurem Natron. Dieser Natronalbuminatlösung fügt man die zum Eiweiss gehörige Dottermasse hinzu. In diese Masse wird dann das Objekt eingelegt und in 75—80%igem Alkohol auf einem Wasserbade erhitzt, schliesslich in 85—90%igem Alkohol nachgehärtet.

Selenka[77]) bringt die vorher gefärbten, alkoholfreien Objekte auf eine oder mehrere Stunden in Hühnereiweiss. Das so durchtränkte Objekt kommt dann in ein mit Hühnereiweiss gefülltes Papierkästchen, das in heissen Wasserdämpfen oder besser in heisser Luft erhitzt wird, bis das Eiweiss nach etwa 20 Minuten geronnen ist. Die Kästchen kommen hierauf in starken Spiritus, der ein- oder zweimal gewechselt wird, und schliesslich in absoluten Alkohol.

Davidoff und Ruge modificirten Calberla's Methode dahin, dass sie das Eiweiss vom Dotter trennten, das erstere gut zerschnitten, dann mit dem Dotter mischten und auf jedes verwendete Ei etwa 8—10 Tropfen Glycerin zusetzten. Die Masse wird dann durch Flanell oder auch durch

dichtes Leinen filtrirt und ist dann zur Verwendung fertig (citirt nach Blochmann[27]).

Alle zu Einbettungszwecken angegebenen Eiweissmassen dringen in die Gewebe meist gut ein und fixiren auch isolirte Gewebsstücke in der natürlichen Lage. Sie haben jedoch das Unangenehme, dass sie bei stärkerer Vergrösserung das Präparat körnig erscheinen lassen, ausserdem wird die Masse an älteren Kanadabalsampräparaten intensiv gelb gefärbt; Schnittfärbung ist nicht möglich, da das Eiweiss sich zu stark mitfärbt. Auch die

2. Gruppe der warmflüssigen Einbettungsmassen hatte noch viele Uebelstände im Gefolge. Zu dieser Gruppe sind fast alle Seifenmassen — speciell jene von Flemming[78]), Kadyi[79]), Pölzam[80]), Döllken[81]) — die Gemische von Wachs und Oel (Stricker[82]), von Spermacet mit Kakaobutter oder Talg — Kleinenberg[83]), Born[84]) und Strasser[85]) — und das Pflanzenwachs von Francotte[86]) zu zählen.

Flemming[78]) empfahl im Jahre 1873 die Transparentseife als Einbettungsmasse.

Er löst davon in der Wärme $\frac{1}{3}$—$\frac{1}{2}$ ihres Volums in gewöhnlichem Weingeist, filtrirt und bringt dann die einzubettenden Objekte hinein. Die Vorzüge dieser Methode bestehen darin, dass man nach dem Erstarren das Objekt in der klaren Seife vollständig übersehen kann und dass alle Lücken etc. des Objektes von der Seife angefüllt werden. Ein wesentlicher Nachtheil liegt in der nicht zu vermeidenden Schrumpfung beim Erstarren der Masse. Das Objekt wird allerdings selbst von der Seife, so lange dieselbe noch flüssig ist, durchtränkt und erlangt »eine Festigkeit und Schneidbarkeit«, wie sie »an entwässerten (Nelkenöl-, Terpentin-) Präparaten nur in Glücksfällen vorgekommen ist«.

Kadyi[79]) empfiehlt Stearinnatronseife, die durch Erwärmen in Alkohol gelöst beim Erkalten zu einer undurchsichtigen Masse erstarrt: wird etwas destillirtes Wasser zugesetzt, so bleibt die Seife schliesslich vollkommen durchsichtig.

Pölzam[80]) schneidet Kernseife in kleinere Stücke, trocknet und pulverisirt sie und vermischt dieselbe mit Spiritus zu einer breiförmigen Masse. Durch Zusatz von Alkohol und Glycerin erhält man eine vollkommen durchsichtige Einbettungsmasse. Dieselbe wird dann erwärmt und über das Objekt gegossen, das man einige Zeit in Spiritus hat liegen lassen. Nach dem Abkühlen erstarrt die Masse und kann dann nach der Grösse des eingeschlossenen Objektes zugeschnitten und mikrotomirt werden.

Stricker[82]) bereitet seine Oelwachsmischung, indem er gleiche Theile Wachs und Olivenöl — das Verhältniss kann je nach gewünschtem Härtegrad variirt werden — zusammenschmilzt. Die vorher gefärbten Objekte werden in Alkohol entwässert, in Nelkenöl eingelegt und kommen dann in die erwärmte flüssige Masse so lange, bis das Stück durch und durch infiltrirt ist.

Die Kleinenberg'sche[83]) Einbettungsmasse besteht aus 4 Theilen Spermacet, 1 Theil Kakaobutter und 1 Theil Ricinusöl.

Die Objekte kommen in diese erwärmte Mischung, nachdem dieselben vorher in absolutem Alkohol entwässert und mit Bergamottöl durchtränkt waren.

Born[84]) empfiehlt dieselbe Masse mit Weglassung der Kakaobutter, Strasser[85]) nimmt an ihrerstatt 3—4 Theile Talg.

Francotte[86]) empfiehlt an Stelle des Paraffins Pflanzenwachs als Einbettungsmedium.

Das fixirte, eventuell gefärbte Objekt wird allmählich in 94%igen Alkohol gebracht; dann kommt es in eine Kapsel mit 94%igem Alkohol und wird bei einer konstanten Temperatur von 48° gehalten und währenddessen in Zwischenräumen Pflanzenwachs zugegeben, bis schliesslich eine breiartige Masse entstanden und der Alkohol völlig verdunstet ist. Das Objekt wird dann mit dem Wachs in ein Pappkästchen ausgegossen, wo das Pflanzenwachs sofort erstarrt.

Hier sei zum Schlusse das Verfahren Gudden's[87]) mitgetheilt, um ganze Gehirne in Schnittserien zu zerlegen. Er benützt eine Mischung von 15 Gewichtstheilen Stearin, 12 Theilen Fett und 1 Theil Wachs. Damit diese Masse in alle Winkel, Spalten und Höhlen eindringen kann, wird das Gehirn erwärmt und mit der warmflüssigen Masse dann übergossen. Eingehendes über alle diese früher für Paraffin gebrauchten Ein-

bettungsmassen findet sich bei BLOCHMANN [27]) und namentlich bei APÁTHY [10]) zusammengestellt.

Litteratur: [1]) KLEBS (Arch. mikr. Anat., Bd. 5, 1869), [2]) F. E. SCHULZE (Sitzber. Ges. nat. Freunde, Berlin 1885), [3]) P. FRANCOTTE (Bull. Soc. Belge Micr., Bd. 13, 1887), [4]) E. STEINACH (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), [5]) SUCHANNEK (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), [6]) FAIRCHILD (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895), [7]) J. SCHAFFER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), [8]) R. THOMA (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), [9]) B. LEE und P. MAYER (Grundzüge), [10]) S. APÁTHY (Die Mikrotechnik der thierischen Morphologie, 1. Abth., Braunschweig 1896), [11]) W. GIESBRECHT (Zool. Anz., 4. Jahrg., 1881), [12]) O. BÜTSCHLI (Biol. Centrbl., Bd. 1, 1881), [13]) O. ISRAEL (Praktikum der patholog. Histologie, Berlin, Hirschwald, 1893), [14]) F. MERKEL (Arch. mikr. Anat., Bd. 14, 1877), [15]) SUCHANNEK (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), [16]) A. CIAGLINSKI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), [17]) B. LEE (Zool. Anz., 1885), [18]) M. HOLL (Zool. Anz., 1885), [19]) P. FRANCOTTE (Bull. Soc. Belge Micr., Bd. 10, 1883—1884), [20]) A. BRASS (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), [21]) P. MAYER (B. LEE und P. MAYER, Grundzüge S. 77, Anm.), [22]) H. N. CONSER (Trans. Amer. Microsc. Soc., Bd. 17, 1896), [23]) L. STIEDA (Arch. mikr. Anat., Bd. 2, 1866), [24]) NEELSEN und P. SCHIEFFERDECKER (Arch. Anat., 1882), [25]) H. JORDAN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), [26]) R. KOSSMANN (Zool. Anz., Bd. 6, 1883, cf. Journ. R. Micr. Soc., Ser. 2, Bd. 3, 1883), [27]) F. BLOCHMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), [28]) P. MIQUEL (Ann. Micrógr., Bd. 1, 1888), [29]) P. ALTMANN (Centr. Bakt., Bd. 9, 1891), [30]) F. G. NOVY (Centr. Bakt., Bd. 23, 1898), [31]) BUNSEN's, REICHERT's, SOXHLET's, L. MEYER's Thermoregulatoren in F. und M. LAUTENSCHLAEGER's Preisverzeichniss. Berlin), [32]) H. SAHLI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), [33]) P. ALTMANN (Centr. Bakt., Bd. 12, 1892), [34]) E. A. SCHEPILEWSKY (Centr. Bakt., Bd. 14, 1894), [35]) W. KARAWAIEW (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), [36]) N. SACHAROFF (Protok. zasaid. Kavkazk. med. Absh. Tiflis 1888), [37]) W. P. KURTSCHINSKI (Wratsch, 1892), [38]) F. u. M. LAUTENSCHLAEGER (Preisverzeichniss bakter., mikrosk. etc. Apparate und Instrumente, Berlin), [39]) F. HANFLAND (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), [40]) P. MAYER (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 4, 1887), [41]) F. W. HOFFMANN (Zool. Anz., 1884), [42]) M. P. FRANCOTTE (Procès-verb. Soc. belge de Microsc. Séance 30. Nov. 1884), [43]) B. A. LEE et L. F. HENNEGUY (Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique, Paris 1896), [44]) H. STRASSER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), [45]) Graf F. SPEE (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), [46]) M. P. FRANCOTTE (Bull. Soc. belge Micr., 1884), [47]) B. RAWITZ (Leitfaden für histologische Untersuchungen, Jena, G. Fischer, 1889), [48]) A. ANDRES, W. GIESBRECHT und P. MAYER (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 4, 1882), [49]) O. FRANKL (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), [50]) L. RHUMBLER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895), [51]) A. B. LEE (The Microtomists Vade-mecum, 3. ed., 1893), [52]) L. RHUMBLER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), [53]) E. SELENKA (Zool. Anz., Bd. 8, 1885), [54]) E. A. ANDREWS (Amer. Nat., Bd. 31, 1887), [55]) H. HENKING (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), [56]) J. S. KINGSLEY (Amer. Nat., Bd. 31, 1887), [57]) A. LÉCAILLON (Recherches sur l'oeuf et sur le développement embryonaire de quelques Chrysomélides. Thèse, Paris 1898), [58]) H. H. FIELD und J. MARTIN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), [59]) W. PATTEN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), [60]) W. Mc. M. WOODWORTH (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard, Bd. 25, 1893), [61]) KNOWER (Journ. Morph., Bd. 16, 1900), [62]) F. SCHAUDINN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), [63]) M. SAMTER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), [64]) R. W. HOFFMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), [65]) R. W. HOFFMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), [66]) W. NOACK (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), [67]) H. JORDAN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), [68]) M. SCHULGIN (Zool. Anz., Bd. 6, 1883), [69]) KAISER (Bot. Centr., Bd. 1, 1880), [70]) GERLACH (Unters. aus dem Anat. Inst. Erlangen, 1884), [71]) NICOLAS (Bibl. anat. Paris, 3. Jahrg., 1896), [72]) J. STEVENSON (Edinburgh med. Journ., 1876), [73]) E. NEUMANN (VIRCH. Arch., Bd. 23, 1862), [74]) BRESGEN (VIRCH. Arch., Bd. 65, 1875), [75]) R. FLEISCHER (VIRCH. Arch., Bd. 65, 1876), [76]) E. CALBERLA (Morph. Jahrb., Bd. 2, 1876), [77]) E. SELENKA (Zool. Anz., 1878), [78]) W. FLEMMING (Arch. mikr. Anat., Bd. 9, 1873), [79]) H. KADYI (Zool. Anz., 1879), [80]) PÖLZAM nach W. SALENSKY (Morph. Jahrb., Bd. 3, 1877), [81]) A. DÖLLKEN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), [82]) S. STRICKER (Handbuch der Lehre von den Geweben, Bd. 1, 1871), [83]) KLEINENBERG, in der Uebersetzung von FOSTER und BALFOUR (Grundzüge der Entwicklungsgeschichte der Thiere, Leipzig 1876), [84]) BORN (Morph. Jahrb., Bd. 2, 1877), [85]) STRASSER (Morph. Jahrb., Bd. 5, 1879), [86]) P. FRANCOTTE (Bull. Soc. Belge Micr., Bd. 13, 1887), [87]) B. GUDDEN (Gesammelte und hinterlassene Abhandlungen, herausgegeben von H. GRASHEY, Wiesbaden, Bergmann 1889).

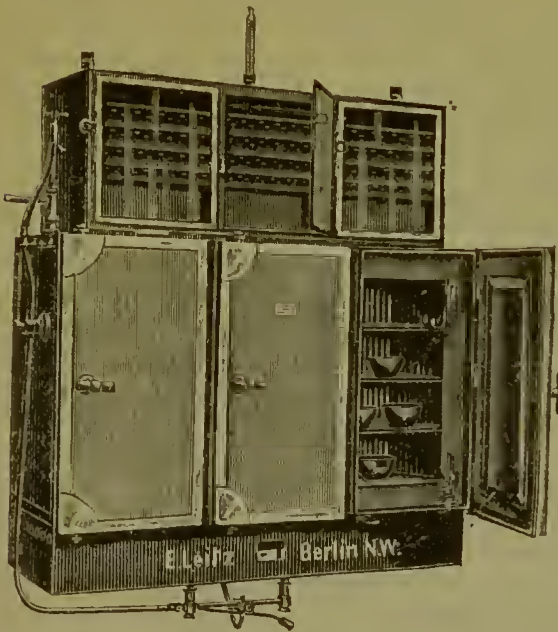
L. Neumayer, München.

Paraffin-Aufklebeofen. Um Präparate für die Paraffineinbettung ganz allmälig in höhere Temperaturen überzuführen, hat ROSEN einen besonderen, sehr empfehlenswerthen Thermostaten konstruirt. Einem gewöhnlichen, doppelwandigen, mit Thermoregulator versehenen Paraffinofen, sitzt ein zweiter, kleinerer Aufklebeofen ohne Boden fest auf, dessen Innentemperatur durch Oeffnungen in der Decke des ersteren regulirt werden kann. Der Paraffinofen hat eine Innentemperatur von 58—60°, der Aufklebeofen eine solche von 32—36°. Auf der mit Pappe belegten Decke des ersteren beträgt die Temperatur 48°.

Unsere Fig. 111 zeigt ein auf denselben Principien beruhendes, nach unseren Angaben von E. Leitz, Berlin, konstruirtes Modell. Die Objekte gelangen aus dem Chloroform in Chloroform-Paraffin in den Aufklebeofen bei 35°, dann in Weichparaffin auf den mit Linoleum belegten Boden des letzteren bei 45° und schliesslich in Hartparaffin in den eigentlichen Paraffinofen bei 58°.

Paraffineinbettung mit Schwefelkohlenstoff als Uebergangsmedium. Zu feineren wissenschaftlichen Zwecken kann man mit Vortheil bei der Paraffineinbettung Schwefelkohlenstoff als Durchgangsmedium benützen. Das Verfahren ist im allgemeinen dasselbe wie bei allen gewöhnlichen Einbettungen. Die gut entwässerten Stücke passiren nach einander folgende Durchgangsmedien: 1. eine Mischung von Alkohol und Schwefelkohlenstoff zu gleichen Theilen. 2. reinen Schwefelkohlenstoff, 3. desgleichen wiederholt, 4. eine gesättigte Lösung von 55grädigem Paraffin in Schwefelkohlenstoff, welche bei etwa 30° C. hergestellt wurde; zu dem Zweck setzt man ein Glas mit wenig Schwefelkohlenstoff auf den Kasten eines Thermostaten, dessen Temperatur auf 36° gehalten wird, und lässt darin Paraffin sich lösen, so viel sich lösen mag; 5. eine gesättigte Lösung von Paraffin zu 55° in Schwefelkohlenstoff, welche bei einer Temperatur von 40—42° hergestellt wurde; letzteres wird in ganz analoger Weise besorgt auf dem Kasten eines Thermostaten, dessen Temperatur auf 55—57° steht, 6. reines Paraffin, 7. desgleichen reines Paraffin; dann folgt die Einbettung.

Fig. 111.



Vortheile des Verfahrens: 1. der Schwefelkohlenstoff besitzt eine vorzügliche Durchdringungsfähigkeit; 2. es löst sich überraschend viel Paraffin in Schwefelkohlenstoff, so dass die Einbettung bereits in den Schwefelkohlenstoff-Paraffinmischungen eine vergleichsweise sehr vollkommene wird; 3. da diese Mischungen auf niederer Temperatur gehalten werden, so kann man die Stücke darin sehr lange liegen lassen, ohne die Hitzewirkung fürchten zu müssen (24 Stunden in Mischung I, 6 Stunden in Mischung II sind vortheilhaft für Objekte gewöhnlicher Grösse, eventuell kann der Aufenthalt in II noch viel länger genommen werden); 4. der Aufenthalt in reinem Paraffin bei 56—57° kann demgemäss abgekürzt werden; da das Paraffin einmal gewechselt wird, schlagen wir vor: für kleine Stücke je $1/2$ Stunde, mittlere je 1 Stunde, grosse je $1 1/2$ Stunden; 5. Schwefelkohlenstoff wirkt nicht oxydirend; es können daher Stücke eingeschmolzen werden, die mit leicht zerstörbaren Farben (Chromhämatoxylin) durchgefärbt wurden; 6. die Schnittkonsistenz ist gut; manche Objekte, wie z. B. Muskulatur, schneiden sich so ausgezeichnet wie bei keinem anderen Verfahren.

Vorsichtsmassregeln: 1. Schwefelkohlenstoff ist sehr feuergefährlich, also Vorsicht dringend geboten; 2. die Entwicklung von Schwefelkohlenstoffdämpfen — üblen Geruch — vermeidet man, indem man nur

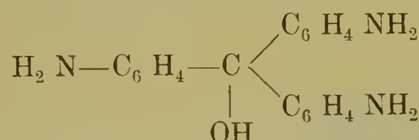
Glasgefässe mit vorzüglich eingeriebenem Stopfen verwendet und indem man zweitens bei allen schwefelkohlenstoffhaltigen Mischungen etc. jedes Schütteln, Aufrühren, Inbewegungsetzen der Masse vermeidet; unter diesen Umständen wird fast gar kein Schwefelkohlenstoffgas entbunden; 3. sobald Schwefelkohlenstoff sich zersetzt, was namentlich bei der Schwefelkohlenstoff-Alkoholmischung nach einiger Zeit zu erwarten ist, muss die Flüssigkeit erneuert werden; dieser Fall tritt erst nach mehrfachem Gebrauche ein. Die Paraffinmischungen scheinen konstant zu sein. *Heidenhain,* Tübingen.

Paraffinum liquidum, Paraffinöl, stellt die über 360° siedenden, flüssigen Bestandtheile des Erdöls dar, ein farbloses, dickflüssiges, neutrales Liquidum, das in Wasser ganz unlöslich, in Alkohol nur sehr wenig löslich ist und hauptsächlich aus Naphtenen besteht.

Paraformaldehyd siehe Formaldehyd.

Parakarmin siehe Karminsäure.

Pararosanilin, Triamidotriphenylkarbinol:



findet sich immer als Verunreinigung in dem technischen Fuchsin. Es kann in Form farbloser, in Wasser schwer löslicher Blättchen durch Erhitzen von Anilin und Paratoluidin mit Arsensäure oder anderen Oxydationsmitteln dargestellt werden. Es bildet eine Reihe von Salzen, die sich vor den Rosanilinsalzen nur durch ihre etwas grössere Wasserlöslichkeit auszeichnen. Technisch wird es bis jetzt noch nicht dargestellt.

Parasiten, thierische. Die mikroskopische Untersuchung der thierischen Parasiten des Menschen und der Säugethiere hat sich neben bestimmten Entwicklungsstadien (Larven und Eiern) der schmarotzenden Würmer hauptsächlich mit den schmarotzenden Protozoen zu beschäftigen. Für das erfolgreiche Studium beider Parasitengruppen wird die mikroskopische Technik in ihrem ganzen Umfang beherrscht werden müssen. Denn da es sich um die Untersuchung thierischer Zellen handelt, haben die technischen Hilfsmittel, welche von Histologen und Zoologen angewandt werden, sämmtlich ihre Bedeutung. Wenn sich infolgedessen im Princip für das Studium der thierischen Parasiten keine besonderen Vorschriften geben lassen, wie sie beispielsweise für pflanzliche Schmarotzer aus der Gruppe der Bakterien ausgebildet sind, so wird ein kurzer Hinweis auf den Gang der Untersuchung zur Ueberwindung der mannigfachen Schwierigkeiten nützlich sein.

Als selbstverständlich muss vorausgesetzt werden, dass die Morphologie der Parasiten auf ihren verschiedenen Entwicklungsstufen dem Untersucher ebenso vertraut ist, wie der Bau der Wirthsorgane, -Gewebe und -Zellen in seinen feineren Einzelheiten. Unkenntniss in diesen Fragen hat ebenso häufig wie mangelhafte Präparationstechnik zu bedauerlichen Irrthümern geführt.

In erster Linie kommt für die Untersuchung thierischer Parasiten die Durchmusterung des lebensfrischen Materials in Betracht, die in vielen Fällen allein den Nachweis charakteristischer Strukturverhältnisse und bisweilen sehr auffallender Bewegungserscheinungen ermöglicht. Bei richtiger Blendenstellung und Anwendung der besten optischen Hilfsmittel (Apochromate) werden gerade die kleinsten und zartesten Parasitenformen ungefärbt

am besten in Wirthszellen erkannt. Daneben wird man sich in manchen Fällen mit Vortheil der Vitalfärbung (Methylenblau, Neutralroth) bedienen. Besonders das von Certes angegebene Verfahren scheint mir empfehlenswerth. Danach lässt man einen kleinen Tropfen alkoholische Methylenblaulösung auf einem reinen Objektträger verdunsten und breitet neben dem sich sofort bildenden Methylenblauniederschlag die zu untersuchende Flüssigkeit derartig auf dem Objektträger aus, dass beide sich nur in einer Randzone decken. Dann löst sich allmählich das Methylenblau und färbt die zelligen Elemente, ohne dass ihre Struktur durch Beimengung differenter Lösungsmittel (Wasser, Alkohol) leidet. Wird das Untersuchungsmaterial in seinem ganzen Umfang auf dem Niederschlag von Methylenblau vertheilt, so stören die Farbstoffkrystalle ebenso wie die zu intensive Farbstoffaufnahme.

Die frische Untersuchung erfordert besondere Vorsichtsmassregeln, um eine Schädigung der Parasiten durch Druck des Deckglases, Eintrocknen, oder durch Zusatz von Flüssigkeiten zu vermeiden. Flüssiges oder halbflüssiges Material ist nach vorsichtiger Ausbreitung auf dem Objektträger zunächst mit schwachen Trockenlinsen zu untersuchen, um festzustellen, ob grössere Körper (Cysten, Eier) vorhanden sind, welche durch das Deckglas zerquetscht werden könnten. Will man die Möglichkeit einer Quetschung und das Eintrocknen gleichzeitig verhindern, so untersucht man im hängenden Tropfen mit Vaselinabschluss. Als Regel ist diese Methode jedoch nicht zu empfehlen, da der hängende Tropfen nur in seinem Randtheile mit Immersionslinsen durchmustert werden kann. So werthvoll seine Anwendung auch aus den oben genannten Gründen sowie zur Feststellung von Eigenbewegungen ist, so kann man doch auf dem plangeschliffenen Objektträger eine grössere Menge von Material in dünnster Schicht bei stärksten Vergrösserungen durchsuchen. Die Umrandung des Deckgläschens mit Wachs giebt die Möglichkeit, auch hier die Verdunstung beliebig lange zu verhindern: will man ein derartiges Präparat nachträglich fixiren und färben, so gelingt es leicht, den Wachsrand mit scharfem Skalpell loszulösen, das Deckglas vom Objektträger wagrecht abzuziehen und auf diese Weise zwei Ausstrichpräparate zu gewinnen, deren weitere Behandlung unten beschrieben ist.

Der Zusatz von körperfremden Flüssigkeiten (Wasser, Kochsalzlösung) wird, wenn irgend möglich, vermieden. Wo die Organsäfte sehr spärlich sind, hilft man sich durch Zusatz von Blut, Blutserum oder Kammerflüssigkeit des Wirthes. In besonderen Fällen kann zur Untersuchung von Darmparasiten eine Eiweisslösung (Hühnereiweiss 30 Ccm., Kochsalz 1,0 Grm., in 200 Ccm. Wasser gelöst) dienen.

Unter Umständen wird die Beobachtung bei der Körpertemperatur des betreffenden Wirthsthieres im Wärmemikroskop oder auf dem erwärmbaren Objektträger vorgenommen werden müssen. Beide Vorrichtungen haben aber bisher zur sicheren Feststellung von thierischen Parasiten nur geringe Vortheile gezeigt; jedenfalls scheinen die meisten Arten eine geringe Abkühlung besser zu vertragen, als zu weitgehende stundenlange Erwärmung.

Zur Ergänzung der Beobachtungen am frischen Material muss in allen Fällen die Untersuchung des fixirten Materials vorgenommen werden. Hierfür hat sich in erster Linie die Fixirung von Ausstrichpräparaten bewährt, welche viel schneller und unter Umständen schonender die nachträgliche Färbung gestatten als Schnittpräparate. Da fast alle Organsäfte, in welchen thierische Parasiten vorkommen, verhältnissmässig reich an Eiweisssubstanzen sind, so genügt es in der Regel, dieses Körpereiweiss zur Fällung zu bringen, um dann die Präparate in beliebiger Weise weiter behandeln zu können. In Ausnahmefällen kann man durch Zusatz von Eiweisslösung die Parasiten fest an die Deckgläschen fixiren. Beim Ausbreiten des Materials ist ein Zerzupfen desselben recht vorsichtig vorzunehmen. Es genügt in der Regel, wenn man mit einem Stück des betreffenden Organs über ein sorgfältig gereinigtes Deckgläschen hinweg streicht und dann bis zum Verdunsten der

Flüssigkeit wartet; derartige dem blossen Auge als eben lufttrocken erscheinende Gewebsausstriche werden sofort in einer flachen Schale mit der Fixirungsflüssigkeit übergossen. Zur Fixirung kann entweder Alkohol absolutus, Alkoholeisessig oder Sublimatalkohol dienen; zur Färbung benutze ich entweder Hämatoxylinfarben, nach Alkohol- und Sublimatfixirung die ROMANOWSKY'sche Färbungsmethode, die Eisenhämatoxylinmethode nach HEIDENHAIN, oder das BIONDI'che Dreifarbgemisch.

Der grösste Procentsatz aller thierischen Parasiten findet sich im Magendarmkanal oder in seinen Anhangsdrüsen. Demnächst ist bei den Säugethieren die Muskulatur häufig der Sitz von Schmarotzern, welche aber in der Mehrzahl zu den Würmern gehören und in der Regel vermöge ihrer Grösse schon makroskopisch nachweisbar sind; hier wird nur zur Feststellung der Art unter Umständen die mikroskopische Untersuchung der vorsichtig mit Nadeln herauspräparirten Wurmcysten erfolgen müssen. Schliesslich schmarotzen im Blut eine Anzahl verhältnissmässig gefährlicher Parasiten, von denen in erster Linie die Malariaplasmodien und die Filarialarven hervorzuheben sind.

Der Nachweis von Protozoen ist bei lebenden Thieren in erster Linie in den Ausscheidungen möglich. Die Untersuchung auf thierische Parasiten hat dementsprechend mit der Untersuchung der Exkrete des Darmkanals zu beginnen. Dieselben müssen in der Regel verdünnt werden, um eine mikroskopische Untersuchung im hängenden Tropfen zu ermöglichen.

Zur Ausscheidung gelangen entweder Dauerformen, welche dazu bestimmt, sowie durch ihren Bau in den Stand gesetzt sind, unter ungünstigen und für ihre Entwicklung ungeeigneten Verhältnissen lebensfähig zu bleiben, oder aber Formen, welche ausserhalb des Wirthskörpers absterben. Handelt es sich um den Nachweis von Dauerformen, so können das entweder Cysten von Protozoen oder Eier von Eingeweidewürmern sein. In beiden Fällen genügt es, wenn der Darminhalt mit Wasser soweit verdünnt wird, dass die Verdünnung dem blossen Auge völlig durchsichtig erscheint. Sind Dauercysten oder Eier in grösserer Zahl in den Entleerungen vorhanden, so wird sich schon bei schwacher Vergrösserung ihre Anwesenheit im Präparat nachweisen lassen. In anderen Fällen muss besonders bei Wurminfektion die Untersuchung häufig wiederholt werden; insbesondere sollten zu verschiedenen Tageszeiten und von verschiedenen Theilen der Ausscheidungen Proben entnommen werden.

Der Ungeübte wird gelegentlich im Zweifel darüber sein, ob er Coccidiencysten oder Entozoeneier vor sich hat. Grösse und Form können gelegentlich ganz ähnlich sein. Am sichersten geht man, wenn man in der feuchten Kammer bei Luftzutritt die Entwicklung beobachtet, die bei Entozoeneiern die Umwandlung in einen Embryo, bei Coccidiencysten den Zerfall in Sporen bewirkt. Im allgemeinen sind Eier der Eingeweidewürmer durch ihre Färbung und ihre dickere mehrschichtige Hülle von den Coccidiencysten zu unterscheiden.

Die Aufbewahrung von Darminhalt oder Darmwand in der feuchten Kammer führt zu sehr lästigen Fäulnisserscheinungen. Wenn auch die auftretende Bakterien- und Schimmelpilzwucherung die normale Reifung der Cysten nicht stört, so empfiehlt sich doch eine Einschränkung derselben. Am wirksamsten geschieht das durch Zusatz einer wässerigen Kaliumbichromatlösung, welche die Sporenreifung von Coccidium cuniculi selbst als 5—10%ige Lösung nicht beeinträchtigt.

Handelt es sich jedoch darum, in der Schleimhaut und im Inhalt des Darmes zartere Lebensformen zu untersuchen, so wird man sorgfältig jeden Zusatz vermeiden müssen, welcher den Bau derselben zerstören könnte. Diese vorsichtige Behandlung erfordern vor allem die Protozoen, von denen Amöben, Flagellaten, Ciliaten oder Sporozoen im Darminhalt vorkommen können. Bei Untersuchung dieser Organismen wird man sich nach Möglichkeit schleimige Bestandtheile des Stuhles auswählen. In solchen Fällen ist dann die Untersuchung im hängenden Tropfen nicht empfehlenswerth, sondern die Untersuchung auf dem plangeschliffenen Objektträger vorzuziehen.

Das Auflegen der Deckgläschen muss dann besonders vorsichtig erfolgen, eventuell unter Zuhilfenahme von Wachsfüsschen, damit der ausgeübte Druck die Parasiten nicht zerquetschen kann. Zur Orientirung wird eine mittelstarke Vergrösserung anzuwenden sein, um die verdächtigen Partien aufzusuchen. Für die Feststellung von Bewegungen genügt es in der Regel, die Untersuchung in einem warmen Zimmer auszuführen, da erfahrungsmässig auf diese Organismen die Abkühlung lange nicht so ungünstig einwirkt wie eine eventuell zu weitgehende Erwärmung.

Besonders auffallend sind die Bewegungen der Ciliaten und Flagellaten, welche infolgedessen auch am ersten das Auge des Untersuchers auf sich ziehen, wenn es auch anfangs nicht gelingt, den Grund der Bewegung zu erkennen. Der Wirbel der kleinsten körnigen Darmbestandtheile und Bakterien macht darauf aufmerksam, dass eine stärkere Bewegungsquelle sich im Präparat befindet. Es empfiehlt sich die Untersuchung mit Oelimmersion fortzusetzen, um Einzelheiten in dem Bau der Parasiten zu erkennen.

Man kann durch Zusatz von Kirschgummilösung (Eismond 1890) oder 1—3%iger Gelatinelösung (Jensen 1892) die Bewegungsintensität dieser Organismen soweit einschränken, dass ein Studium der Geisseln und Cilien nach ihrer Zahl und Anordnung auch im frischen Präparat möglich wird.

Viel träger ist die Bewegung der Amöben, insbesondere der Dysenterieamöben, weil es sich dabei nur um ein langsames Fortfliessen und Aussenden von Protoplasmafortsätzen handelt. Gerade in diesem Ausnahmefall hat sich die Vermischung von Schleimpartikelchen mit physiologischer Kochsalzlösung als ein werthvolles Hilfsmittel erwiesen. Die im Darmschleim sich bewegenden Parasiten führen dann viel energischere Bewegungen aus, welche sich allerdings meist auf die Aussendung von Pseudopodien beschränken. Daneben erfolgt aber auch Ortsveränderung und Nahrungsaufnahme. Auch bei Zimmertemperatur (18—20° C) können an solchen Präparaten die Bewegungen stundenlang verfolgt werden; ob dieselben jedoch noch normale Lebenserscheinungen sind, oder ob nicht doch eine Schädigung der Organismen durch die Kochsalzlösung bedingt wird, ist vorläufig nicht festzustellen.

Wenn auch für den Nachweis der thierischen Parasiten frische Präparate meist genügen, so ist es doch für eingehenderes Studium ihres Baues unbedingt erforderlich, gefärbte Dauerpräparate herzustellen. Das Untersuchungsmaterial kann zu diesem Zweck entweder in grösseren Stücken fixirt und geschnitten oder aber zur Herstellung von Ausstrichpräparaten verwandt werden.

Am schonendsten wirkt bei dünnen Ausstrichen des Darminhaltes auf Deckgläschen die Fixirung mit Osmiumsäure, in Lösung oder Dampfform, und das Flemming'sche Gemisch. Für die Fixirung von Coccidien wird durch Schaudinn erwärmter Sublimatalkohol empfohlen, welcher sicher in allen Fällen, in welchen es sich um Fixirung feinerer Kernstrukturen handelt, den Vorzug verdient, obgleich die Schwierigkeiten nicht gering sind bei dickschaligen Cysten eine gute Färbung zu erzielen.

Ich habe häufig dann gerade noch durch die Anwendung von Alkoholeisessig verhältnissmässig gute Resultate erreicht. Selbsverständlich muss in beiden Fällen der Färbung ein Auswaschen der Präparate voraus gehen und zwar nach Fixirung mit Osmiumsäure in Wasser, nach Fixirung mit Alkoholeisessig in Alkohol, nach Fixirung mit Sublimatalkohol in Jodalkohol und Alkohol. Die leichte Braunfärbung nach Fixirung mit Osmiumsäure gestattet eventuell eine Durchmusterung der ungefärbten Präparate. Die weitere Behandlung erfolgt bei den letzteren am besten in der Weise, dass ein Tropfen verdünnten Glycerins mit schwachem Farbstoffgehalt an den Deckglasrand gesetzt wird und nun vorsichtig das Ein-

dringen des Glycerins und des Farbstoffes zwischen Deckgläschen und Objektträger abgewartet wird. Durch die Verdunstung des Wassers steigert sich dann so allmählich der Glyceringehalt, dass Schrumpfungen noch am ehesten vermieden werden. Derartige Präparate können dann in der üblichen Weise mit Asphaltlack umrandet jahrelang aufgehoben werden. Die Deckglasausstriche, welche mit Alkoholeisessig und Sublimatalkohol fixirt sind, vertragen sämmtliche Färbungsarten in derselben Weise wie aufgeklebte Schnitte. Sie können daher beliebig gefärbt werden; für die meisten Zwecke erschien Hämatoxylinfärbung nach Delafield, die Eisenhämatoxylinfärbung oder Karbolthioninfärbung ausreichend. Handelt es sich um die Darstellung von Geisseln, so empfiehlt es sich. nach einfacher Alkoholfixirung die Romanowsky'sche Färbemethode anzuwenden, welche hierfür Vorzügliches leistet und vor allen Dingen für den Nachweis des Ansatzes der Geisseln sehr werthvoll ist, da sie die Geisselwurzeln oder Blepharoblasten gleichfalls energisch färbt.

Bei der Sektion wird man vor allem pathologisch veränderte Stellen des Darmes aufsuchen und an denselben sowohl den Darminhalt wie auch die Darmwand gesondert auf das Vorhandensein von Parasiten prüfen. Sind derartige Stellen nicht vorhanden und ist doch der Verdacht auf thierische Darmschmarotzer gelenkt, so wird es sich empfehlen, von verschiedenen Stellen des Darmkanales Proben zu entnehmen, da Parasiten sich auf ganz bestimmte Darmabschnitte beschränken können; so ist es bekannt, dass die Dysenterieamöben fast ausschliesslich im Dickdarm vorkommen und auch hier unter Umständen nur in kleinen Abscessen innerhalb der Darmwand gefunden werden. Andere Parasiten, wie beispielsweise das Coccidium cuniculi, kommen vorwiegend im Dünndarm vor und zeigen hier vor allen Dingen im Anfangsstadium der akuten Erkrankung den charakteristischen Zerfall in Sichelkeime, während in späteren Stadien die Dauercysten auch im Enddarm und häufig besonders lange im Blinddarm nachgewiesen werden können. Will man feine Schnitte vom Darminhalt herstellen, so empfiehlt es sich, mit einem Skalpel erbsengrosse Tropfen in Sublimatalkohol oder Alkoholeisessig fallen zu lassen; dieselben gerinnen hier augenblicklich zu kleinen Kugeln und können dann ohne Schwierigkeit eingebettet und in feinste Serienschnitte zerlegt werden. Natürlich ist auch die Fixirung von Theilen der erkrankten Darmwand zur späteren Herstellung von Schnittpräparaten in jedem Falle wünschenswerth.

Dasselbe Verfahren wird bei der Untersuchung des Inhalts der übrigen Schleimhäute auf das Vorhandensein thierischer Parasiten einzuschlagen sein und gilt schliesslich auch für die Untersuchung sämmtlicher Organe, bei denen zunächst pathologisch veränderte Stellen, Abscesse oder dergleichen im frischen Präparat auf das Vorhandensein von Parasiten zu prüfen sind. Besonders häufig ist bekanntlich die Leber der Sitz solcher Infektionen und zwar finden sich hier ebenso leicht Wurmcysten wie bei einigen Thieren und bei Menschen, Amöbenabscesse oder Coccidienherde.

Nächst dem Magendarmkanal und seinen Anhangsorganen ist das Muskelgewebe häufig der Sitz von Parasiten; ausser makroskopisch wahrnehmbaren Wurminfektionen kommen bei Säugethieren besonders häufig Sarkosporidienschläuche vor, welche sehr verschieden starke Veränderungen des Muskelgewebes hervorbringen können. Sie werden neben den Trichinen am häufigsten nachgewiesen und sind durch den Zerfall in kleinste sichelförmige Körperchen sehr leicht im frischen Zupfpräparat erkennbar.

Ganz besonders wichtig ist dann ferner die Untersuchung des Blutes auf thierische Parasiten. Obgleich hier die Fixirung und Färbung gute Resultate ergiebt, ist doch in jedem Fall die Untersuchung eines frischen Präparates zu empfehlen, weil sie unter Umständen charakteristische An-

haltspunkte ergiebt. Auch im Blut kommen besonders in tropischen und subtropischen Gegenden häufig Filarien, bezw. Embryonen derselben vor und besitzen als gefährliche Krankheitserreger in diesen Ländern eine besondere Bedeutung. Für ihren Nachweis ist es beachtenswerth, dass bestimmte Arten nur des Nachts im peripheren Blute angetroffen werden.

Bei der Herstellung der frischen Blutpräparate ist Sorgfalt insofern geboten, als die Entnahmestelle nach Möglichkeit gesäubert werden muss; beim Menschen wird man in der Regel durch einen Einstich in die Fingerbeere oder das Ohrläppchen mit einer scharfen sterilisirten Lanzettnadel das Blut gewinnen. Der Einstich darf besonders bei der Fingerbeere nicht zu oberflächlich sein, damit er auch bei stärkerer Epidermis wirklich ein kleines Gefäss öffnet. Die Untersuchung des frischen unverdünnten Blutes wird zweckmässiger auf dem plangeschliffenen Objektträger vorgenommen als im hängenden Tropfen, weil hier bei genügender Ausbreitung eine viel grössere Anzahl von rothen Blutkörperchen von der Fläche durchmustert werden kann. Verdünnt man jedoch das Blut mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit einem indifferenten Serum, so kann man zur Feststellung von Bewegungserscheinungen auch im hängenden Tropfen untersuchen. Die Anwendung des letzteren wird auch in den Fällen erwünscht sein, in welchen die Gefahr vorliegt, dass grössere Parasiten oder Parasitenkomplexe in der kapillaren Blutschicht zwischen Deckglas und Objektträger zerquetscht werden und Formveränderungen erleiden. Die Grösse des Tropfens ist hierbei keineswegs gleichgiltig und sollte stets so gewählt werden, dass auch bei leichtem Druck der Raum unter dem Deckgläschen nicht ganz ausgefüllt wird; bei reichlicheren Blutmengen erschweren mehrfach über einander gelagerte rothe Blutkörperchen die Untersuchung bei stärksten Vergrösserungen wesentlich. Eine Umrandung dieser Präparate ist in unserem Klima in der Regel überflüssig, da die Randtheile des Blutes schnell gerinnen und dadurch die Verdunstung der Flüssigkeit stundenlang verhindern. Bei hoher Aussentemperatur sowie bei längerer Aufbewahrung der Präparate im Wärmeschrank empfiehlt sich jedoch eine Umrandung mit Wachs oder Paraffin.

Unentbehrlich bleibt jedoch gerade nach der Untersuchung frischer Blutpräparate die Fixirung und Färbung von Deckglasausstrichen. Bei Herstellung derselben ist zu beachten, dass einerseits der Ausstrich in genügend dünner Schicht erfolgt, damit die einzelnen rothen Blutkörperchen völlig übersehen werden können und ferner keine Quetschung und mechanische Gestaltveränderung derselben eintritt.

Es müssen sorgfältig gereinigte, insbesondere von anhaftenden Fett- und Staubtheilchen befreite Deckgläschen verwendet und in deren Mitte mit der Platinöse oder mit dem Glasstab kleine Tropfen Blut gebracht werden. Man lässt dann mit einer kleinen Deckglaspincette ein zweites ebenso gereinigtes Deckgläschen auf das erste fallen, wodurch die Ausbreitung des Blutes in kapillarer Schicht sofort bewirkt wird. Dabei ist es allerdings nothwendig, schnell zu verfahren, ehe eine Gerinnung des Blutes eintritt. Das obere Deckgläschen muss so auf dem unteren liegen, dass die Kanten sich nicht decken, beide Deckgläschen zusammen vielmehr die Figur eines achteckigen Sternes bilden. Dann kann man zwei vorspringende Ecken der Deckgläschen mit den Fingern oder der Pincette fassen und dieselbe in der Richtung der Deckgläschenebene auseinanderziehen. Statt der Deckgläschen kann man in derselben Weise geschliffene Objektträger verwenden und hat hierbei den Vortheil, eine grössere Menge von Blut auf Parasiten untersuchen zu können. Um jedoch Quetschungen und Zerrungen des Präparates völlig auszuschliessen, kann man eine andere Methode anwenden, welche besonders für die Ausstriche bei Objektträgern Anwendung findet. Man bringt einen grösseren Blutstropfen an die Kante eines Objektträgers und fährt mit demselben in einem spitzen Winkel über die Fläche eines zweiten Objektträgers hinweg; dann breitet sich die Blutschicht in dem spitzen Winkel zwischen beiden Objektträgern aus und wird lediglich durch das schnelle Hinstreichen und die kapillare Spannung des Blutes vollkommen gleichmässig über den Objektträger ausgebreitet, ohne dass hierbei mechanische Beschädigungen der Elemente des Blutes erfolgen können. Dieselbe Methode lässt sich mit Deckgläschen ausführen, nur muss der Tropfen Blutes hierbei entsprechend kleiner gewählt werden. Schaudinn (1902) entfernt den ersten aus der Stichwunde hervorquellenden Bluttropfen; »der zweite Tropfen wird mit einem vorgewärmten runden Glasstab, den ich eine kurze Strecke über den Tropfen ziehe, aufgefangen und sofort mit der bestrichenen Seite des Stabes über ein Deckglas (vorgewärmt) gefahren.« Stephens und Christophers (1900) nehmen (nach Ruge) den vorquellenden Blutstropfen direkt an einem Ende des Objektträgers auf, etwa 1 Cm. vom Rand entfernt. Dann wird der Blutstropfen mit der geraden Nadel, mit der in den Finger eingestochen wurde, berührt, das Blut läuft, so lange die Nadel völlig glatt ist, an letzterer entlang. Durch Streichen der Nadel über den Objektträger wird das Blut in dünner Schicht ausgebreitet.

Bevor die Fixirung dieser Blutausstriche erfolgt, lässt man die Präparate an der Luft trocknen. Wenn es auf sehr feine Einzelheiten, ins-

besondere auf das Studium des Kernes ankommt, wird man nur so lange trocknen, bis für das Auge die Feuchtigkeit eben verschwindet, um dann sofort zur Fixirung zu schreiten. Kommt es aber nur auf den Nachweis von Parasiten an, so kann das Präparat beliebig lange in angetrocknetem Zustande aufgehoben werden, sofern es nur vor Fäulniss und Zerstörung der ausgestrichenen Schicht geschützt wird. Die Fixirung der Blutpräparate erfolgt entweder durch absoluten Alkohol, ein Gemisch von Sublimat und Alkohol, oder durch trockene Hitze. In den meisten Fällen ist es empfehlenswerth und ausreichend, die Fixirung in absolutem Alkohol vorzunehmen; am besten erfolgt dieselbe, indem die Ausstrichpräparate in eine Glasschale mit der bestrichenen Seite nach oben nebeneinander ausgebreitet werden; dann giesst man so viel absoluten Alkohol in die Schale, dass die Deckgläschen davon eben bedeckt werden. Nach 15—30 Minuten wird der Alkohol abgegossen, die Schale mit einem Stück Fliesspapier bedeckt, welches die Verdunstung des zurückgebliebenen Alkohols gestattet, eine Verunreinigung des Apparates durch Staub jedoch verhindert. Nach der Verdunstung des Alkohols kann sofort die Färbung folgen. Diese Fixirung, bei welcher die Koncentration des benutzten Alkohols von 94—98% schwanken darf, genügt für die meisten Färbungen. Nur für das Studium feinster Kernverhältnisse scheint es vortheilhaft zu sein, die Fixirung mit Sublimatalkohol (30 Minuten) vorzunehmen, mit Jodalkohol und schliesslich zur Entfernung des Jodes mit Alkohol auszuwaschen.

Die Fixirung durch trockene Hitze (Erwärmung auf 110—115° C für 20 Minuten) besitzt für die spätere Färbbarkeit der Parasiten nach meiner Erfahrung keine Vorzüge.

Handelt es sich nur um den Nachweis von Parasiten, so genügt es, ein derartiges Präparat mit einem der gebräuchlichen Anilinfarbstoffe zu färben. Die verschiedensten Farblösungen sind hierfür empfohlen worden; man erreicht beispielsweise durch wässerige Methylenblaulösung, dass sich die Parasiten als dunkelblaue Körper von den rothen Blutkörperchen, welche gewöhnlich einen grünlich blassen Farbton annehmen, deutlich abheben. Insbesondere genügt diese Methode häufig für den Nachweis intraglobulärer Parasiten. Dagegen färben sich die im Serum lebenden Flagellaten schwerer. Kontrastreicher und haltbarer ist nach meinen Erfahrungen eine Behandlung der Blutpräparate mit einer Lösung von Karbolthionin.

Ich benutze die nach Nicolle's Vorschrift hergestellte Karbolthioninlösung: gesättigte Lösung von Thionin (Ehrlich-Hoyer, bezogen von Dr. Grübler & Co., Leipzig) in 60% Alkohol 20 Theile, 2%ige wässerige Karbolsäurelösung 80 Theile. Das Gemisch erreicht erst nach einigen Tagen seine volle Färbkraft, bleibt dann aber sehr lange haltbar. Die Lösung soll auf Ausstrich- und Schnittpräparate 5—10 Minuten einwirken; eine Ueberfärbung ist nicht zu befürchten und eventuell leicht durch Alkoholbehandlung zu beseitigen. Die Färbung ist besonders empfindlich gegen Säuregehalt des Kanadabalsams; über Neutralisirung des letzteren siehe unter »Kanadabalsam«.

Mit Karbolthionin färben sich die Parasiten rothviolett; die Kerne der rothen, bezw. der weissen Blutkörperchen nehmen einen dunkleren Farbenton an. Das Protoplasma der rothen Blutkörperchen erscheint leicht grünlich gefärbt. Diese Präparate sind für den Nachweis der Parasiten sehr geeignet, wenn auch nicht sehr beständig. Besonders nach Einbettung in Kanadabalssm verblassen sie allmählich; andererseits gestatten sie bei trockener Aufbewahrung noch eine mehrfache Musterung in Wasser zur Feststellung der Diagnose. Wenn man das Präparat trocken aufbewahrt, kann es später mit anderen Farbstoffen behandelt werden; nur muss vorher das Karbolthionin mit Alkohol entfernt sein. Bei der Mehrzahl der Blutparasiten macht sich nach Anwendung der gewöhnlichen Färbemethoden der Uebelstand geltend, dass die Kerne dieser Organismen mit den gewöhnlichen Methoden nicht färbbar sind, und dass ferner leicht Farbstoffniederschläge auf den rothen Blutkörperchen das Vorhandensein von Parasiten für ungeübte Untersucher vortäuschen. Das trifft auch für die empfohlene Karbolthioninlösung zu.

Diese Schwierigkeiten werden nur durch die ROMANOWSKY'sche Färbungsmethode gelöst. Nach eingehenden Versuchen gab mir unter Berücksichtigung der von ZIEMANN und NOCHT gesammelten Erfahrungen die folgende, 1900 veröffentlichte, Vorschrift brauchbare Resultate. Ich benutze für die ROMANOWSKY'sche Färbung Eosin extra BA Höchst, Methylenblau med. puriss. Höchst und polychrome Methylenblaulösung nach UNNA; sämmtlich von GRÜBLER & Co., Leipzig, bezogen.

Für den Gebrauch stelle ich mir hieraus her:

ROMANOWSKY'sche Lösung I: Eosin extra BA 1 : 1000 in hoher Flasche, aus welcher leicht mit einer Vollpipette 2 Ccm. entnommen werden können.

ROMANOWSKY'sche Lösung II: 1% Methylenblaulösung 1 Theil, z. B. 10 Ccm., Polychromes Methylenblau nach UNNA, 2 Theile, z. B. 20 Ccm.

Letzteres Gemisch wird in einer kleinen Tropfflasche aufbewahrt und ist wenige Tage nach der Herstellung — dann aber unbegrenzt — haltbar. Auf der Flasche muss vermerkt werden, wie viel Tropfen auf 1 Ccm. gehen; bei den von mir verwandten Tropfflaschen sind 13—14 Tropfen = 1 Ccm.

Bei der ersten Verwendung neuer Lösungen füllt man in drei Glasschälchen je 2 Ccm. der Lösung I, setzt 6, 7, beziehungsweise 8 Tropfen der Lösung II zu und legt in jedes Schälchen ein Deckgläschen, mit der bestrichenen Seite nach unten. Der Erfolg der Färbung kann nach 20—30 Minuten durch Untersuchung des in Wasser abgespülten Präparates mit einer starken Trockenlinse kontrolirt werden. Zur Beurtheilung dieses Erfolges genügt es, die Kerne der weissen Blutkörperchen aufzusuchen, welche wegen ihrer Grösse leichter gefunden werden als die unter Umständen nur spärlich vorhandenen Parasiten. Sind sie intensiv rothviolett gefärbt, so darf man darauf rechnen, dass die Zusammensetzung der Lösungen stimmt. Ist die rothviolette Kernfärbung nicht eingetreten, so können ohne Schaden einige Tropfen der Methylenblaumischung zugefügt und das Präparat in demselben Schälchen weiter gefärbt werden.

In dem Gemisch tritt regelmässig ein Niederschlag ein, welcher in keiner Weise stört, sondern im Gegentheil ein Zeichen dafür ist, dass sich die Farbstoffe in dem günstigen Zustande der Schwebefällung befinden, in welchem sie am wirksamsten sind. Um zu vermeiden, dass die blutbestrichene Seite des Deckgläschens durch diese Niederschläge verunreinigt sind, lässt man dasselbe mit der bestrichenen Seite nach unten auf der Flüssigkeit schwimmen, unmittelbar nach der Mischung, ehe die Bildung eines metallisch glänzenden Häutchens auf der Oberfläche erfolgt.

Der Erfolg der Färbung ist in geringen Grenzen von der Temperatur des Raumes, von der Dauer der Färbung und von der Beschaffenheit der Präparate abhängig. Die Kerne der verschiedenen Parasiten färben sich nicht gleichmässig schnell, man muss deshalb für jedes Objekt das beste Mischungsverhältniss feststellen. Im allgemeinen kann angegeben werden, dass sich die Parasiten der menschlichen Malaria, sowie die Cytosporoninfektion der Vögel gleichmässig in Bezug auf Färbbarkeit der Kerne verhalten und bei einem geringen Zusatz von Methylenblaumischung kontrastreichere Bilder geben als die Vogelparasiten, welche zur Gattung Hämoproteus (Synonym: Halteridium) gehören.

Da es nun sehr zeitraubend wäre, in jedem Falle das Färbungsoptimum abzupassen, empfiehlt es sich häufig, von vornherein zu überfärben; man erreicht dann in jedem Falle die rothviolette Färbung der Kerne und kann mit Leichtigkeit die zu dunkle Färbung der übrigen Bestandtheile durch Auswaschen mit sehr schwacher Eosinlösung beseitigen. Zu diesem Zwecke fügt man zu einem Glas Wasser einige Cubikcentimeter der Eosinlösung 1 : 1000, ergreift das Deckgläschen mit einer Deckglaspincette, taucht es für kurze Zeit in das durch Eosin schwach rosa gefärbte Wasser und spült es danach sofort in reinem Wasser ab. Die Entfärbung muss fortwährend unter dem Mikroskop kontrolirt werden.

Es verdient hier besonders hervorgehoben zu werden, dass die ROMANOWSKY'sche Färbung keineswegs eine reine Chromatinfärbung ist, wie das vielfach behauptet wird und zur irrthümlichen Deutung besonders bei der Färbung von Bakterien Anlass gegeben hat. Der Werth der Methode besteht darin, dass Kernbestandtheile, welche unseren gewöhnlichen Färbungsmethoden nicht oder nur schwer zugänglich sind, sich damit färben lassen. Ein Unterscheidungsmittel von Kern- und Cytoplasmabestandtheilen ist sie ebensowenig wie die übrigen angeblichen Kernfärbungsmethoden. Es lässt sich beweisen, dass im wesentlichen die Dichtigkeit der Zellbestandtheile die Färbbarkeit mit diesem Farbstoff beeinflusst, und zwar geht dies besonders aus den Ergebnissen der Geisselfärbung hervor, welche uns zuerst bei den Flagellaten des Rattenblutes gelang.* Zur färberischen Darstellung derselben ist eine Ueberfärbung der Präparate nothwendig, da sich die Geisseln der Trypanosomen schwerer färben als die Kerne dieser Flagellaten. Dafür

* v. WASIELEWSKI und SENN.

haftet der Farbstoff um so fester an ihnen; deshalb lässt sich auf diese Weise der Zusammenhang zwischen der Geissel und Geisselwurzel sehr schön nachweisen und gleichzeitig zeigen, dass die Methode keine specifische Kernfärbung bewirkt, da ein ektoplasmatisches Gebilde wie die Geissel die Färbung annimmt.

Sehr wichtig ist die spätere Behandlung der nach ROMANOWSKY gefärbten Präparate. Die Untersuchung findet am besten im Wasser statt, da Entwässerung, Aufhellung und Einbettung in Kanadabalsam den Erfolg der Färbung leicht beeinträchtigen. Wenn jedoch auf die Einbettung in Kanadabalsam Werth gelegt wird, so empfiehlt es sich, den Wassergehalt des Präparates mechanisch entweder durch Abtupfen mit Fliesspapier oder durch Verdunstenlassen bei Zimmertemperatur zu entfernen. Ein 24stündiges Aufheben dieser Präparate in trockener Umgebung genügt ohne besondere Vorsichtsmassregeln zur vollkommenen Entwässerung und dürfte am schonendsten für die Präparate sein.

Ich besitze Präparate, welche auch in Kanadabalsam nach mehr als 3 Jahren ausgezeichnet gefärbt blieben.

Von den übrigen für die ROMANOWSKY'sche Färbung empfohlenen Methoden sollen hier nur zwei kurz erwähnt werden, von deren Brauchbarkeit ich mich selbst überzeugen konnte. Es sind das die von LAVERAN und ARGUTINSKY angegebenen Vorschriften. Die Methode von LAVERAN beruht darauf, dass Methylenblau mit dem Niederschlag von Silberoxyd in Berührung gebracht wird, und dass auf diese Weise die Veränderungen erreicht werden, welche ich nach dem Vorgang von NOCHT durch Zusatz des polychromen Methylenblau erhalte. Ausserdem entfärbt LAVERAN mit einer 5%igen Tanninlösung, welche die Kernfärbung fast gar nicht beeinflusst, dagegen Niederschläge und Ueberfärbung des Protoplasmas bis zu einem gewissen Grade beseitigt. Seine Vorschrift lautet: In eine Flasche von 150 Ccm. Inhalt bringt man einige Krystalle Silbernitrat und 50—60 Ccm. destillirtes Wasser. Nach Lösung der Krystalle füllt man die Flasche mit einer Sodalösung und schüttelt sie. Es bildet sich ein schwarzer Niederschlag von Silberoxyd, der mehreremal mit destillirtem Wasser ausgewaschen wird, um den Ueberschuss von Soda und die salpetersauren Sodaverbindungen zu entfernen. Auf das Silberoxyd giesst man dann eine gesättigte Methylenblaulösung, die 14 Tage damit in Berührung bleibt und mehreremale umgeschüttelt wird. LAVERAN verwendet hierzu das Methylenblau medicinale aus den Höchster Farbwerken und bezieht das Eosin, wovon er sich eine Lösung von 1 Grm. auf 1000 Grm. Wasser herstellt, ebendaher. Die in der angegebenen Weise hergestellte Methylenblaulösung bezeichnet er als »bleu Borrel«. Kurz vor der Benutzung mischt er 4 Ccm. der Eosinlösung, 6 Ccm. destillirtes Wasser, 1 Ccm. bleu Borrel, giesst die Mischung in eine PETRI'sche Schale und färbt 20—30 Minuten, spült dann mit reinem Wasser ab, behandelt das Präparat 10—15 Minuten mit 5%iger Tanninlösung und spült von neuem mit Wasser ab. Einen störenden Niederschlag entfernt er mit Nelkenöl, dann mit Xylol. Er macht auch darauf aufmerksam, dass die Präparate besser trocken als in Kanadabalsam aufgehoben werden und dass sie sich vor allem in Cedernöl sehr schnell entfärben.

ARGUTINSKY hat sich sehr eingehend mit der Technik der Malariafärbung beschäftigt und ausgezeichnete Färbungen derselben erzielt. Er glaubt dieselbe hauptsächlich dem Umstande zu verdanken, dass er seine Präparate mit Sublimatalkohol fixirt und vor der Fixirung nicht trocknen lässt. Seine ausführlich geschilderte Färbungsmethode muss im Original (Arch. mikr. Anat. Bd. 59) eingesehen werden.

Dass die ROMANOWSKY'sche Methode mit Erfolg auch nach der Fixirung mit Sublimatalkohol anwendbar, die selbstverständlich für die Darstellung

feiner Kernverhältnisse der reinen Alkoholfixirung vorzuziehen ist, kann ich bestätigen. Sie bleibt auf diese Weise nicht auf die Färbung von Blutparasiten beschränkt, sondern gab mir insbesondere bei Ausstrichpräparaten von Darminhalt und Darmschmarotzern gute Resultate, sogar nach Fixirung derselben mit Alkoholeisessig. (Näheres über die ROMANOWSKY'sche Methode siehe Artikel Malariaplasmodien, pag. 783 ff.)

Diesen allgemeinen Angaben über die Technik der Parasitenuntersuchung sollen noch einige specielle Rathschläge für besondere Parasitengruppen folgen. Es muss dabei für die Untersuchung der schmarotzenden Würmer auf den Artikel Würmer hingewiesen werden.

Von thierischen Hautparasiten kommen nur die Acarinen in Frage, und zwar die Krätzmilbe, Acarus scabiei und die Haarbalgmilbe, Acarus folliculorum.

Die Anwesenheit der Krätzmilbe erkennt man beim Menschen hauptsächlich an den Kratznarben, welche durch die Anwesenheit des Parasiten bedingt werden. Häufig ist es nicht möglich, die charakteristischen Milbengänge aufzufinden, insbesondere zu Beginn der Erkrankung und wenn im Verlauf derselben die entzündlichen Erscheinungen sehr ausgeprägt sind. Für die Erkennung der Krankheit ist die Lokalisation der Veränderungen von Wichtigkeit. Man findet am regelmässigsten die Hände, die Achselfalte, sowie die Innenfläche der Handgelenke, die Aussenfläche des Ellbogengelenkes erkrankt. Hier wird man unter günstigen Bedingungen erkennen, dass die im Umfang von 1—2 Mm. zerwühlte Epidermis oberflächlich verletzt ist und von hier aus einen Gang nachweisen, der schief nach abwärts reicht, 1—2 Cm. lang werden kann, von Stelle zu Stelle punktirt ist und so aussieht, als ob unter die Epidermis eine Nadel vorgeschoben sei. Am Ende dieses Ganges befindet sich eine Abrundung, wo als ein gelblichweisses, glänzendes, hervorragendes Pünktchen die weibliche Milbe liegt, während der Gang durch die gelblichen Eier und schwarze Punkte ausgefüllt ist. Die Milben sind nicht an der zerklüfteten Seite des Ganges zu suchen, sondern am knopfförmigen Ende.

KAPOSI empfiehlt, mittelst der Spitze eines feinen Messers oder mit einer nicht federnden Stahlnadel knapp neben dem gelblich-weissen Endpunkte einzustechen und den Inhalt herauszuheben. Für die Untersuchung des Milbenganges ist die Entfernung der erkrankten Hautpartie mit der Schere und die Untersuchung dieses Hautstückes unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrösserung anzurathen. Für die Fixirung kommt in erster Linie Pikrinschwefelsäure in Frage; im übrigen gilt für die Untersuchung der Milben, was an anderer Stelle über die histologische Untersuchung von Insekten mit chitinöser Schale gesagt ist.

Die Haarbalgmilbe kann man mittels eines Messerrückens mit dem Talgdrüseninhalt aus der Haut herausquetschen, auf dem Objektträger ausbreiten und nach Zusatz einer indifferenten Flüssigkeit unter dem Mikroskop untersuchen.

Die Untersuchung von Amöben ist bereits gestreift worden und insbesondere wurde die Beobachtung der Dysenterieamöben bei der Untersuchung des Darminhalts schon erörtert. Man kann nur in den fast ausschliesslich blutig schleimigen Entleerungen Dysenteriekranker darauf rechnen, Amöben zu finden; hier gelingt der Nachweis aber unter Umständen auch noch, nachdem der blutige Schleim an Wäsche angetrocknet war, wenn die Eintrocknung nicht zu weit gegangen ist. In Leberabscessen sucht man im Eiter häufig vergeblich nach Amöben, während sie nach ROGERS (1902) in der Abscesswand stets nachgewiesen werden können. Für die Erforschung der in Bezug auf Bau und Entwicklung nur mangelhaft bekannten Dysenterieamöben muss man sich durch die Uebertragung auf Katzen frisches Unter-

suchungsmaterial sichern. Dies gelingt am besten durch Einreiben amöbenhaltiger Schleimpartikelchen in die Dickdarmschleimhaut vom Anus aus. Betreffs der Amöbenzüchtung ist zu bemerken, dass dieselbe auf keimfreiem Nährboden bisher nie gelang.

Dieselbe ist nur möglich, wenn man gleichzeitig Bakterien überträgt, welche den Amöben als Futter dienen können. Aber auch auf diese Weise gelang bisher niemals die Züchtung parasitischer, sondern nur diejenige freilebender Amöben.

Die Untersuchung von Sporozoen hat sich zunächst mit den am häufigsten vorkommenden Arten zu beschäftigen. Man kann am sichersten bei Kaninchen darauf rechnen, Coccidienmaterial im Darm oder in der Leber aufzufinden; besonders bei jungen, 4—6 Wochen alten Thieren richtet diese Infektion häufig grosse Verheerungen an. Die Entnahme des Materials folgt in der oben geschilderten Weise.

Für den Nachweis von Coccidien bei Tausendfüssen und anderen Insektenarten empfiehlt es sich nach Schaudinn, die Thiere in Glasschalen einzuschliessen, deren Boden mit Deckgläschen bedeckt ist. Auf diese Weise gelingt es, den Koth der Thiere zu sammeln, indem die Deckgläschen direkt unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrösserung nach Zusatz von Wasser durchmustert werden, um hierin das Vorhandensein von Cysten festzustellen. Wenn man die Reifung dieser Cysten in der feuchten Kammer abwartet, kann man durch Verfütterung sich neuinficirte Thiere verschaffen. Dieselbe Methode gilt für die Untersuchung der zahlreichen bei Arthropoden schmarotzenden Gregarinen.

Die Untersuchung der im Darm meist als harmlose Gäste vorkommenden Flagellaten und Infusorien ist bereits gestreift worden. Besonders interessant ist die Untersuchung der im Rattenblut vorkommenden Formen, welche sich sehr häufig finden und bei denen man durch Uebertragung geringer Blutmengen in die Bauchhöhle weisser Ratten Entwicklung und Vermehrung verfolgen kann. Es gelingt die Entnahme von Blut am besten aus der Schwanzspitze. Vermischt man einen Tropfen Blut mit sterilisirter Kochsalzlösung und impft intraperitoneal, so treten nach 4—7 Tagen Theilungsformen der Flagellaten im Schwanzblut des geimpften Thieres auf, die zunächst frisch, dann aber auch nach Romanowsky gefärbt untersucht werden können. Die Züchtung und künstliche Vermehrung der bei Menschen und Kaninchen im Darm gelegentlich vorkommenden Flagellatenart Lamblia intestinalis ist bisher nicht gelungen. Für die Untersuchung der zahlreichen bei Säugethieren im Darm- und Mageninhalt vorkommenden Flagellaten empfiehlt es sich, den frisch entleerten Inhalt eben getödteter Thiere mit Fixirungsflüssigkeiten aufzufangen und in Paraffin einzubetten.

Litteratur: Argutinsky (Arch. mikr. Anat., Bd. 59, 1901), Behla (Die Amöben, Berlin 1898), Doflein (Die Protozoen als Parasiten- und Krankheitserreger, Jena 1901), Kaposi (Pathologie und Therapie der Hautkrankheiten, 5. Aufl., Berlin-Wien 1899), Laveran (C. r. Soc. Biol., 9. Juni 1900), Pfeiffer (Die Protozoen als Krankheitserreger, Jena 1891), Schaudinn (Zool. Jahrb., Bd. 13, 1900; derselbe, Arb. kais. Gesundheitsamt, Bd. 18 u. 19, 1902), v. Wasielewski (Sporozoenkunde, Jena 1896), derselbe und Senn (Zeit. Hyg., Bd. 33, 1900).

v. Wasielewski, Berlin.

Pariser Violett, Syn. Benzylviolett, Methylviolett 6 B, Violett 5 B, Gemenge von Pentamethylbenzylpararosanilin- und Hexamethylpararosanilinchlorhydrat. Dem Methylviolett sehr ähnlich und aus diesem durch Behandlung mit Benzylchlorid entstehend. Je höher das Produkt benzylirt ist, mit umsomehr B wird es bezeichnet. Durch Mischen von dem höchst benzylirten Violett 6 B mit Methylviolett entstehen dann die Produkte Methylviolett 2 B, 4 B, 5 B, 6 B.

Parmablau, Syn. für Anilinblau R.

Patentblau, Triphenylmethanfarbstoff (Höchst), der durch Kondensation von m-Oxybenzaldehyd mit Diäthylanilin (Patentblau V. N.) oder Aethylbenzylanilin (Patentblau A) und Sulfurirung entsteht. Kommt als Natrium- oder Kalksalz in den Handel als Ersatz für Indigkarmin. Kupferrothes, in Wasser leicht, in Alkohol schwer lösliches Pulver. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure grün, mit Natronlauge bleibt sie unverändert.

Nach JANSSENS soll es in alkoholischer, angesäuerter Lösung besondere Affinität zu kutikularisirtem Zellplasma haben.

Litteratur: JANSSENS (Cellule, Bd. 9, 1893).

Pektinverbindungen siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Pelletierin, $C_8H_{15}NO$, ein Alkaloid aus der Rinde des Granatbaumes. Farblose Flüssigkeit vom spec. Gew. 0,988 bei 0°. In Alkohol und Aether leicht löslich, in Chloroform sehr leicht löslich. Vom kalten Wasser werden 23 Theile gelöst; die Lösung hat stark alkalische Reaktion.

Pelletierin, das in der praktischen Medicin als wurmtreibendes Mittel Verwendung gefunden hat, dient in der Mikrotechnik in 4%iger Lösung zum Narkotisiren von Gastropoden (SCHÖNLEIN). Siehe auch Mollusken.

Litteratur: SCHÖNLEIN (Zeit. Biol., Bd. 9, 1892). *Mosse*, Berlin.

Pentase siehe Enzyme.

Pepsin siehe Verdauung als histologische Methode.

Peridinin siehe Chromatophorenfarbstoffe der Pflanzen.

Peritoneum. Zur Darstellung der Grenzen der Endothelzellen behandelt man das Peritoneum mit Lösungen von Silbernitrat oder anderer Silbersalze. KOLOSSOW bindet das Mesenterium über ein Glasrohr und spannt es durch Aufblasen an. Zunächst wird mit destillirtem Wasser abgespült und dann für einige Sekunden in eine 0,1—0,25%ige Lösung des Silbersalzes oder in eine Mischung von gleichen Theilen 1%igen Silbernitrats und 2%iger Osmiumsäure übertragen; nachdem das Präparat mehrmals in destillirtem Wasser abgespült ist, wird es in absolutem Alkohol fixirt. KOLOSSOW hat auch eine besondere Methode für das Endothel der serösen Häute ausgearbeitet. Nachdem die Präparate in physiologischer Kochsalzlösung abgespült sind, werden sie für 10—15 Minuten in folgende Lösung eingelegt: Osmiumsäure 1—2 Grm., koncentrirte Salpetersäure 2 Ccm., absoluter Alkohol 50 Ccm. und destillirtes Wasser 50 Ccm. Die Reduktion erfolgt dann unmittelbar nachher ebensolange in: destillirtes Wasser 45 Ccm., 85%iger Alkohol 10 Ccm., Glycerin 5 Ccm., Tannin und Pyrogallussäure je 3 Grm. Nach der Reduktion gelangen sie nochmals für 5 Minuten in 0,25%ige Osmiumsäure, werden mit Wasser abgespült und in Alkohol übertragen.

Zur Versilberung des Endothels des Zwerchfells bedient sich MUSCATELLO der LUDWIG'schen Methode. Der Bauch eines durch Nackenstich getödteten Kaninchens wird im kranialen Drittel durch einen Querschnitt in zwei Theile zerlegt. Das dadurch im oberen Drittel freigelegte Zwerchfell wird zunächst mit dest. Wasser und dann im Dunkeln einige Minuten lang mit 1%iger Silbernitratlösung berieselt, wieder abgespült und mehrfach mit Alkohol begossen.

HOFFMANN behandelt das frische Peritoneum des Frosches zunächst ½ Stunde mit Citronensaft und legt dann ebensolange in ½%iges Goldchlorid ein. Zur Reduktion gelangt das Präparat 1—2 Tage in 5%ige Ameisensäure mit 1% Methylalkohol und dann in Glycerin mit 10% Ameisensäure.

Zur Isolation des Endothels bringt MUSCATELLO das Peritoneum in Zusammenhang mit der Muskulatur für 12—18 Stunden bei 37° in MÜLLER-

sche Flüssigkeit. Streicht man dann mit dem Skalpell über die Serosa, so kann man das Endothel in grossen Fetzen entfernen, in Säurefuchsin oder Pikrokarmin färben und in Kaliumacetat konserviren.

Zur Darstellung der Membrana limitans bringt man wie oben für zwei Tage in Müller, dann für 1 Tag in 40—50en Alkohol. Man kann nun das Endothel mit dem Pinsel oder einem starken Wasserstrahl entfernen und die Grenzmembran abziehen.

Litteratur: Kolossow (Arch. mikr. Anat., Bd. 42, 1893), Muscatello (Virch. Arch., Bd. 142, 1885), Hoffmann (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 95, 1888).

Pest. Der Erreger der Bubonenpest, gleichzeitig von Kitasato und Yersin 1894 bei einer Pestepidemie in Hongkong entdeckt, ist in seiner typischen Form ein kurzer, plumper Bacillus mit abgerundeten Enden, die im gefärbten Präparat deutlich tingirt sind, während der mittlere Theil des Bacillus ungefärbt bleibt (»Polfärbung«). Er findet sich in den geschwollenen Lymphdrüsen, im Blut, namentlich in schweren septikämischen Fällen; im Urin, häufig auch in den Lungen, dem Mund und im Sputum, ferner auch im Darm.

Zur Färbung von Blut- und Organsaftausstrichpräparaten empfiehlt Gotschlich eine ganz momentane Einwirkung von unverdünnter Ziehl-Neelsen'scher Karbolfuchsinlösung und sofortigem nachherigen Abspülen mit reichlich Wasser. Oft giebt eine Vorbehandlung des Präparates mit $^1/_2$%iger Essigsäure ca. $^1/_2$ Minute lang (nach Gaffky) mit nachfolgender Abspülung im Wasser und Färbung in der eben genannten Weise noch bessere Resultate. Weichselbaum, Kolle u. a. empfehlen dagegen Methylenblau zur Färbung. Will man bei Verwendung starker Farblösungen die centrale Lücke gut erhalten, so empfiehlt sich nach Zettnow Nachspülung mit Alkohol. Zur Erzielung einer besonders guten und sicheren Polfärbung halten es Kossel und Overbeck für zweckmässig, die Deckglasausstrichpräparate nicht nur in der üblichen Weise dreimal durch die Flamme zu ziehen, sondern vorsichtig etwas länger über der Flamme zu erhitzen. Nach diesen Autoren sind nämlich am geeignetsten zur Erzielung guter Polfärbung alle Methoden, welche die rothen Blutkörperchen so fixiren, dass sie bei der Färbung mit alkalischen Methylenblaulösungen einen grünlichen Ton annehmen. Dieser Grad der Härtung wird am sichersten durch Einlegen der Präparate in absoluten Alkohol auf 25 Minuten oder nach Sobernheim dadurch erreicht, dass man auf das lufttrockene Präparat etwas Alkohol absolutus aufgiesst und nach kurzer Einwirkung wieder abgiesst, worauf der Rest in der Flamme abgebrannt wird. Färbt man so fixirte Präparate $^1/_2$ Minute mit Boraxmethylenblau (Lösung von 2% Methylenblau in 5% Borax enthaltendem Wasser) oder 2—3 Minuten in alkalischer Löffler'scher Methylenblaulösung, so kann man stets auf das Zustandekommen der Polfärbung rechnen, besonders bei Ausstrichpräparaten aus dem inficirten Thierkörper, andeutungsweise auch bei Kulturausstrichen. Statt des Methylenblau kann man auch verdünnte Karbolfuchsinlösung oder Gentianaviolettlösung verwenden. Eine weitere Methode zur guten Erzielung der Polfärbung, die zunächst für Schnitte von Kossel und Overbeck angegeben ist, s. unten.

Oft weichen die Bacillen in Blut- oder Organsaftausstrichen von der typischen Form ab, sind oft kokkenartig klein, oft mehr langgestreckt, häufig blasig aufgetrieben und schlecht färbbar. Derartige monströs veränderte Formen lassen sich besonders auf künstlichen Nährböden von hohem Kochsalzgehalt (nach Hankin) erzielen und können für die Diagnose Verwerthung finden.

Zettnow hat an Präparaten, die nach der Löffler'schen Geisselfärbungsmethode behandelt waren, an dem Pestbacillus eine Kapsel nachgewiesen, die auch von anderen Autoren bestätigt wurde, jedoch nicht konstant zu sein scheint.

Nach der Gram'schen Methode wird der Pestbacillus entfärbt.

Zur Färbung der Pestbacillen in Schnitten ist nach GAFFKY folgende Methode geeignet: Konservirung in Alkohol oder einem Gemisch von Eisessig 10,0, Chloroform 30,0 und Alkohol 96% 60, Einbettung in Paraffin, Schneiden, Färben in schwacher, wässeriger Methylenblaulösung 2—3 Stunden, dann schnell in absoluten Alkohol übertragen. Xylol, Balsam. Eine andere, gleichfalls von GAFFKY empfohlene Methode ist, den Schnitt 24 Stunden in koncentrirte Lösung von Fuchsin in Glycerin zu belassen, dann mit schwacher Essigsäure kurze Zeit zu entfärben, dann Alkohol, Xylol, Balsam. Zur Härtung wird absoluter Alkohol empfohlen.

KOSSEL und OVERBECK empfehlen Fixirung in Sublimatalkohol und Alkohol und Färben in einem Gemisch von Methylenblau und Eosin in alkalischer Lösung. Ihre Vorschrift lautet: Koncentrirte wässerige Methylenblaulösung (Methylenblau medicinale, Höchst) wird mit der zehnfachen Menge destillirten Wassers verdünnt und auf jeden Kubikcentimeter der koncentrirten Stammlösung werden 3 Tropfen einer 5%igen wässerigen Lösung von krystallisirter Soda hinzugefügt. Nun wird unter Umschütteln 1%ige wässerige Lösung von Eosin B. A. Extra Höchst tropfenweise zugesetzt. Auf jeden Kubikcentimeter der oben erwähnten Stammlösung kommen etwa 0,5—1,0 Ccm. Eosinlösung. Im Gegensatz zu der für die Chromatinfärbung nach ROMANOWSKY erforderlichen Farbmischung muss für den vorliegenden Zweck das Auftreten eines Niederschlages vermieden werden. — In diesem alkalischen Eosin-Methylenblaugemisch bleiben die Schnitte etwa 2 Stunden, werden dann nach kurzem Abspülen in Wasser in sehr stark verdünnter Essigsäure differenzirt, bis der Schnitt den Rosa-Eosinton zeigt, werden mit Wasser ausgewaschen und nun schnell in 70%igem, dann in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt und in Oel eingebettet. In solchen Präparaten heben sich die Pestbacillen als dunkelblau-violette Stäbchen sehr gut von dem rosa gefärbten Untergrund ab und zeigen zuweilen schöne Polfärbung. Auch für Organsaft-Deckglasausstrichpräparate, die in Alkohol fixirt sind, eignet sich die Methode vorzüglich. Sie ist nach KOSSEL und OVERBECK vor allen Dingen bei der Untersuchung des Blutes von pestkranken Menschen zu empfehlen, weil in sorgfältig hergestellten Präparaten selbst der einzelne Pestbacillus wegen der Kontrastfärbung leicht zu entdecken ist. Die erforderliche Dauer der Färbung beträgt für Deckglasausstrichpräparate nur einige Minuten.

Da noch einige Bakterien, vor allem Hühnercholera, Schweineseuche, selten Bact. coli u. a. Polfärbung aufweisen und unter ausschliesslicher Berücksichtigung des morphologischen Verhaltens differentialdiagnostische Schwierigkeiten bieten würden, sind auch die kulturellen Eigenschaften von grösster Bedeutung. Als charakteristisch gelten ca. 36 Stunden alte oberflächliche Kolonien auf Gelatine. Dieselben stellen warzenförmige, stark lichtbrechende Gebilde dar, die häufig einen sehr zarten, unregelmässig gezackten Saum haben. Nach KLEIN erhält man bereits nach 24 Stunden sehr charakteristische Bilder durch Klatschpräparate. Auch KOSSEL und OVERBECK bestätigen, dass solche Klatschpräparate, welche sorgfältig an der Luft getrocknet, in der Flamme fixirt, gefärbt und nach dem Abspülen unter Vermeidung des Abtupfens durch Absaugen mit Fliesspapier von Waschwasser befreit sind, oft feinste, in landkartenartiger Zeichnung angeordnete Kolonien in grosser Zahl zu einer Zeit aufweisen, wo mit 60facher Vergrösserung an den meisten Stellen Wachsthum überhaupt noch nicht zu sehen ist. Diese kleinen, oft nur aus 50—100 Bacillen zusammengesetzten Kolonien haben eine charakteristische, unregelmässige Gestalt und scheinen oft ganz oder theilweise aus wirren, nicht in einzelne Bacillen abgetheilten Fadenschlingen zu bestehen. Auch in späteren Stadien bietet das Klatschpräparat ein gutes Abbild der älteren Kolonie, welche aus einem von dichten

Bacillenmassen gebildeten Centrum und einem zarten, unregelmässig gebuchteten Rand besteht. Die dem Pestbacillus morphologisch ähnlichen Bakterien bilden derartige Kolonien nicht.

Dass sich auf stark kochsalzhaltigem Agar (2,5—3,5%) bei Körpertemperatur innerhalb 24—48 Stunden sehr charakteristische Involutionsformen bilden, ist bereits erwähnt. MATZUSCHITA hält dieselben für diagnostisch verwerthbar, eine Ansicht, die KOSSEL und OVERBECK u. a. theilen.

Als charakteristische Wuchsform sei schliesslich noch erwähnt, dass der Pestbacillus in Bouillon oft zu langen Ketten von stark abgerundeten, fast kokkenartigen Einzelindividuen auswächst, welche sich als zarte Flocken zu Boden senken und die darüber befindliche Flüssigkeit klar lassen.

Die zur Prüfung des Blutserums eines unter verdächtigen Erscheinungen erkrankten oder erkrankt gewesenen Menschen in der üblichen Weise ausführbare WIDAL'sche Reaktion ist nach KOSSEL und OVERBECK nur makroskopisch zu beurtheilen.

Litteratur: GAFFKY, R. PFEIFFER, STICKER und DIEUDONNÉ (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt, Bd. 16), GOTSCHLICH (Zeit. Hyg., Bd. 35), KOLLE (Deutsch. med. Woch. 1897). Ausführliche Litteratur bei KOSSEL und OVERBECK (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt, Bd. 18, 1901), wo auch die von einer bes. Kommission für Deutschland festgesetzten Bestimmungen zur Entnahme, Versendung und Untersuchung pestverdächtiger Untersuchungsobjekte enthalten sind.

Heymann, Breslau.

Petroleumäther, ein Destillationsprodukt des Petroleums, das im wesentlichen aus Hexan und Pentan besteht. Farblose, leicht bewegliche, bei 50—60° siedende Flüssigkeit, die ausserordentlich leicht entzündlich ist (daher grosse Vorsicht in Bezug auf offene Flammen!). In Wasser ist er unlöslich, löst sich ungefähr in drei Theilen 90%igen Alkohols und in jedem Verhältniss in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und fetten Oelen. Da er am Licht leicht oxydirt, soll er in dunklen Flaschen aufbewahrt werden.

Petroläther ist ein vorzügliches Lösungsmittel für Paraffin und daher als Intermedium sehr zu empfehlen. Ausserdem hat er die gute Eigenschaft, osmirtes Fett gar nicht zu lösen.

Pflanzenfarbstoffe. Unter diesem Namen soll hier eine Anzahl wenig benutzter, von verschiedenen Autoren vorgeschlagener Farbstoffe aufgeführt werden, die zu färberischen Zwecken dem Pflanzenreich entnommen sind.

LAWSON TAIT hat zuerst zum Färben wässerige oder alkoholische Extrakte von Rothkohl benutzt. FLESCH hat später den Farbstoff rein dargestellt, indem er den Extrakt mit Lösung von Bleiacetat ausfällte und dann mit Schwefelwasserstoff das Bleisalz fortschaffte. Der Farbstoff soll nach diesem Autor eine starke Metachromasie zeigen, er färbt am frischen Präparat den Kern grün und das Protoplasma roth.

FOL stellt durch Extraktion mit 10%iger Alaunlösung aus schwarzen Johannisbeeren ein Ribesin dar, es soll besonders Alkoholpräparate sehr gut, ähnlich wie Hämatoxylin, färben.

LAVDOWSKY versetzt den frisch ausgepressten Saft von Heidelbeeren mit zwei Theilen destillirten Wassers und einigen Kubikcentimetern 90%igen Alkohols, lässt kurze Zeit kochen und filtrirt warm. Die entstehende rothe Farblösung, von LAVDOWSKY Myrtillus genannt, giebt eine sehr gute, aber nicht haltbare Kernfärbung. Man kann auch die Schnitte nach der Färbung für kurze Zeit in eine wässerige Lösung von Bleinitrat übertragen und erhält dann violett gefärbte Kerne.

CLAUDIUS stellt sich seine Farbstoffe aus den dunkelviolett gefärbten Blumenblättern von Georginen oder aus Brombeeren, Johannisbeeren, Kirschen,

Hollunderbeeren etc. her. Die betreffenden Pflanzentheile werden mehrmals mit frischen Portionen Alkohol ausgekocht. Das gesammelte Extrakt wird abgekocht, filtrirt und der Alkohol durch Eindampfen verjagt. Man verdünnt dann so, dass auf 100 Grm. Rohsubstanz 100 Ccm. wässerige Farblösung kommt, der man noch 1 Ccm. 25%ige Schwefelsäure und 10 Tropfen Karbolsäure zusetzt. Man erzielt so einen guten Kernfarbstoff, den man noch mit Pikrinsäure versetzen kann. So nimmt man z. B. auf 100 Ccm. schwefelsaures Hollunderbeerroth 5 Ccm. koncentrirte wässerige Pikrinsäure. Eine sehr gute Doppelfärbung für Bakterien erhält man, wenn man zunächst 1—2 Minuten mit einer 2‰igen wässerigen Lösung von Methylviolett färbt, in Wasser abspült und dann 2 Minuten in Pikrinsäure-Hollunderbeerroth färbt, in absoluten Alkohol überträgt und differenzirt in Nelkenöl, Xylol, Balsam.

Litteratur: Lawson Tait (Journ. of Anat. Physiol., Bd. 9, 1875), Flesch (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), Fol (Lehrbuch), Lavdowsky (Arch. mikr. Anat., Bd. 23, 1884), Claudius (Centr. Bakt., Bd. 5, 1899).

Pflanzliche Kerntheilung. Vergleiche für einzelne Familien: Von Schizophycäen: Beggiatoa für Bakterien: Trockenpräparat, Cyanophycäen, Actynomyces, für Algen: Chlorophycäen, Conjugaten, Diatomeen, Characeen, Rhodophyceen, Meeresalgen, Moose (bei Centrosomen und Plasmaverbindungen), Myxomyceten, Pilze, Hefe, Coniferen.

Zur Lebendbeobachtung der Kerntheilung bei höheren Pflanzen (bei niederen vergl. Spirogyra) ist das am gewöhnlichsten benutzte Objekt Haare junger Filamente der Blüten von Tradescantia virginica oder einer anderen Species. »Wir nehmen Blütenknospen zur Untersuchung, die ohne Stiel 5—6 Mm. Höhe messen. Wir öffnen diese Blüten und reissen zunächst mit einer feinen Pincette die Anthere von dem Filament ab. Hierauf führen wir mit dem Skalpell einen Schnitt quer unter der Insertion des Fruchtknotens und der Filamente und heben diesen ganzen Theil aus der Blütenknospe heraus. Wir legen ihn in einen Tropfen 3%iger Zuckerlösung und befreien unter dem Simplex mit Nadeln die Filamente. Der Fruchtknoten sowie etwaige Theile des Blütenbodens werden aus dem Präparat entfernt.« In der feuchten Kammer, wo die Haare ½ Tag oder darüber in entwicklungsfähigem Zustand bleiben, muss der Tropfen möglichst flach ausgebreitet werden. 1½ Stunden nach Beginn des Auseinanderweichens ist bei mittlerer Zimmertemperatur die Bildung der Tochterkerne vollendet (Strasburger, 1897). Als Beobachtungsflüssigkeit kann auch Hühnereiweiss dienen. Weiter sind geeignet die Ovula einiger Orchideen (Treub), von einheimischen zum Beispiel Epipactis palustris, Gymnadenia conopea, weiter Monotropa hypopytis in 5%iger Zuckerlösung, wo auch die doppelte Befruchtung im Leben zu beobachten ist (Strasburger, 1900). Sehr geeignet, allerdings noch besser auf Mikrotomschnitten, sind auch Pollenmutterzellen von Larix, Liliaceen, z. B. Fritillaria, Lilium, weiter Helleborus, doch treten hier wie bei den oben erwähnten Objekten die Einzelheiten zumal der chromatischen Bestandtheile bei Zusatz von Methylgrünessigsäure schärfer hervor. (In 1 bis 2%iger Essigsäure wird soviel Methylgrün gelöst, dass die Flüssigkeit tief blaugrün erscheint [Strasburger, 1897].) So dient dieselbe überhaupt zur schnellen Orientirung über die Objekte, die für die eigentliche Fixirung (s. unten) geeignet sind. Für Versuche über die Abhängigkeit der Kerntheilung von äusseren Einflüssen: Temperatur, Gase, Anästhetika und ihrer relativen Unabhängigkeit vom übrigen Plasma haben sich Tradescantiahaare am besten bewährt (vergl. auch Conjugaten: Erzeugung kernloser Zellen). Die Beobachtung geschieht in einer feuchten Kammer, die die Durchleitung von Gasen ermöglicht, z. B. der Engelmann'schen (Demoor). Die bisherigen Beobachtungen am lebenden Objekt sind am besten zusammengestellt bei Zacharias, 1902.

Fixirung. Beim Konserviren pflanzlicher Organe hat man sich stets die typische Beschaffenheit pflanzlicher Zellen vor Augen zu halten. Ein relativ dünner Plasmamantel wird eingeschlossen von der festen elastischen Zellhaut und umschliesst den meist beträchtlichen Zellsaft, der durch seinen hohen osmotischen Druck die Zellwände straff hält und so zum grössten Theil die Festigkeit der krautigen Organe bedingt. Jede Schädigung des Protoplasten, resp. sein langsames Absterben nimmt ihm die Fähigkeit, den Durchtritt des Zellsafts zu verhindern, es treten Kontraktionen ein und zugleich Schrumpfungen der ganzen Pflanze, wie aber zumal der Protoplasten bis zur Unkenntlichkeit (vergl. Plasmolyse). Es handelt sich also bei der Fixirung pflanzlicher Gewebe in erster Linie darum, ein möglichst schnell tödtendes Mittel anzuwenden, um eine Gerinnung der Protoplasten hervorzurufen, ehe eine Kontraktion stattgefunden hat. Dennoch lässt sich oft bei einer sonst völlig befriedigenden Fixirung eine geringe Loslösung des Protoplasten von der Zellwand nicht vermeiden. Die Zellwände, zumal aber die kutikularisirte Epidermis und Kork, setzen dem Eindringen der Fixirungsflüssigkeit einen erheblichen Widerstand entgegen. Es empfiehlt sich dann die Fixirung in etwas stärkerer Koncentration anzuwenden, also z. B. starke Flemming'sche Lösung zu wählen, wobei dann allerdings oft die äussersten Zellen zu starke Einwirkung erfahren. (Ueber »peripherische« Wirkung siehe Fixation pag. 380.) Aehnlich ist es auch, wenn es sich um die gute Konservirung nicht frei zu präparirender Organe handelt, z. B. des Embryosacks in vielen Samenknospen. Man erhält bei Anwendung stärker wirkender Fixirungsmittel dann von diesem oft sehr gute Bilder, während die Zellen des Nucellargewebes schlecht fixirt sind, wobei allerdings auch der grosse Unterschied des Plasmagehaltes von Bedeutung sein kann. In anderen Fällen kann ohne Schaden die Epidermis abpräparirt werden. Ueberhaupt ist anzurathen, mit möglichst kleinen Stücken zu operiren, falls nicht etwa, wie z. B. beim Studium der Fibrillen in Wurzelspitzen der sich sehr schnell verbreitende Wundreiz störende Veränderungen im Objekt hervorruft. So kann gröbere Präparation bis zum Uebertritt von Zellkernen in die Nachbarzellen führen (Miehe).

Weiter ist zu bedenken, dass ein grosser Theil pflanzlicher Gewebe mit luftführenden Intercellularen durchzogen ist, die das Eindringen der Fixirungsflüssigkeit erschweren. In solchen Fällen wird eine vorsichtige Benutzung der Luftpumpe von Werth sein.

Handelt es sich nur um ein Konserviren, sei es zu makroskopischen Zwecken, sei es zum Studium der Zellgerüste (der Zellmembran), so ist das gebräuchlichste und bestbewährte Mittel 96%iger Alkohol (oder, wenn nicht allzugrosse Schrumpfung zu befürchten ist, Alkoh. absol.). Die starke Bräunung gewisser Pflanzen (Monotropa, Pyrola) wird vermieden durch Zusatz von schwefliger Säure zum Alkohol, der nach 24 Stunden mit reinem Alkohol gewechselt wird (Overton). Um die so gehärteten Objekte, die meist bröcklig werden, leichter schneiden zu können, werden sie vortheilhaft vorher 1 Tag in eine Mischung von $^1/_2$ Glycerin und $^1/_2$ Alkohol gebracht. — In neuerer Zeit wird auch Formol 4% (1 : 10 der käuflichen Lösung) anscheinend mit Erfolg zur gröberen Konservirung in Anwendung gebracht. — Für die Fixirung zu feineren cytologischen Untersuchungen sind ziemlich alle auf thierischem Gebiet gebrauchte Methoden erprobt worden, auch einzelne ausschliesslich für pflanzliche Gewebe vorgeschlagen worden. Dennoch besitzen eigentlich nur sehr wenige eine allgemeine Verwendbarkeit. Systematisch wurden die Fixirungsgemische für die Wurzelspitzen der Nebenwurzel von Vicia faba von Wasielewski untersucht und ihre Brauchbarkeit etwa entsprechend der Häufigkeit ihrer Anwendung gefunden. Der vielfach verwendete Alkohol ist eigentlich nur brauchbar für feinere Untersuchungen über die Zellmembran (s. diese)

und giebt sonst oft wohl zumeist durch den starken Wasserentzug, verzerrte Bilder, bietet aber durch sein leichtes und schnelles Eindringen bei der Fixation nothwendig grosser Stücke nicht zu unterschätzende Vortheile, ebenso durch die Einfachheit der Weiterbehandlung.

Die Flemming'sche Flüssigkeit hat für cytologische Studien eine so weite Verbreitung gefunden, dass mit Recht gesagt werden konnte, man beurtheile die Güte der Fixirungsflüssigkeit nach der Aehnlichkeit mit den Resultaten der Flemming'schen und dass auf ihr beinahe unsere ganze Mitosenforschung beruhe. Sie wird für pflanzliche Zwecke in folgenden Zusammensetzungen gebraucht. Aehnlich dem von Flemming angegebenen starken Gemisch: 1%ige Chromsäure 16 Ccm., 2%ige Osmiumsäure 3 Ccm., Eisessig 1 Ccm. angegeben (Mottier) zur Fixirung der Pollenmutterzellen und für viele andere Objekte (Strasburger's Institut, Bonn). Bei der Fixirung der Wurzelspitzen erhielt Hof mit starkem Gemisch gute Resultate, nur waren die achromatischen Figuren verquollen. Die besten Resultate erhielt er mit folgender Mischung: 1%ige Chromsäure 15 Ccm., 2%ige Osmiumsäure 2 Ccm., Eisessig 1 Ccm., destillirtes Wasser 18 Ccm. Sie hat sich auch sonst im Bonner Institut bei leicht zu durchtränkenden Objekten bewährt, bei Meeresalgen wird statt Wasser 18 Ccm. Meerwasser verwandt. Die schwache Flemming'sche Flüssigkeit: 1%ige Chromsäure 10 Ccm., 1%ige Osmiumsäure 4 Ccm., 1%iger Essigsäure 4 Ccm., Wasser 22 Ccm. wird meist nur für Pilze gebraucht. Mit ungefähr gleich gutem Erfolg wird daneben das theurere Hermann'sche Gemisch und, wenn Osmiumsäureschwärzung vermieden werden soll, das Merkel'sche Gemisch angewandt. Durch Osmium geschwärzte Präparate und auch sonst alle mit Osmiumsäure fixirten kommen vor der Färbung für etwa ½ Stunde in eine Mischung von 4 Vol. 70%igen Alkohol + 1 Vol. Wasserstoffsuperoxyd, das die Färbung, wenn nicht bessert, so doch jedenfalls nicht ungünstig beeinflusst. — Ein Nachtheil der Fixirung liegt in der schlechten Konservirung der Zellmembrane, die oft stark verquellen. — Plasma und Zellgerüst werden durch Sublimatgemische gut erhalten, deren allgemeiner Verwendbarkeit ihr schweres Eindringen entgegensteht, so dass bei ihrem Gebrauch besonders auf kleine Stücke zu achten ist, eventuell auch die Fixation unter der Luftpumpe vorgenommen werden muss. Von Rosen wird die von Keiser angegebene Sublimateisessigmischung als brauchbar angegeben. 10 Grm. Sublimat, 300 Grm. destillirtes Wasser, 3 Grm. Eisessig. Gute Resultate besonders bei nachfolgender Färbung mit Fuchsin-Jodgrün. Speciell für Farne giebt Rosen Carnoymischung: 6 Vol. Alkohol, 1 Vol. Essigsäure, 3 Vol. Chloroform an. Auch Heidenhain's 0,5%ige Kochsalzlösung mit Sublimat gesättigt wird mit Vortheil gebraucht. In gewissen Fällen (Fibrillen und auch Kerntheilung) hat sich eine Modifikation der Kleinenberg'schen Pikrinschwefelsäure bewährt (s. Fibrillen).

Kann auch hier nicht näher darauf eingegangen werden, inwieweit die durch Fixirung erhaltenen Bilder den lebenden Formen entsprechen, sollen doch gewisse gerade häufig bei Pflanzen auftretende Kunstprodukte Erwähnung finden. Besonders charakteristisch ist das sogenannte Sichelstadium des Nukleolus. Vielfach zeigt sich in Sexualzellen in der der Chromosomenreduktion vorhergehenden Kernveränderung (Synapsis) der Nukleolus allein oder neben einem anderen gewöhnlichen Nukleolus kugelschalenartig an der Peripherie des Kerns ausgebreitet. Dass es sich hierbei um ein Kunstprodukt (Strasburger 1895 contra Zimmermann) handelt, ist jüngst gezeigt worden. Werden Wurzelspitzen von Zwiebeln, die sonst diese Erscheinung niemals zeigen, fixirt in absolutem Alkohol 95 Ccm., Chloroform 5 Ccm., Eisessig 1 Ccm., 1%ige Chromsäure 1 Ccm., so sind viele Nukleolen der äusseren Schichten halbkugelartig nach der inneren Peripherie des Kernes gedrängt, ebenso wie auch oft die Hauptmasse des Chromatins

(Schafner). Letzteres Kunstprodukt tritt auch sonst häufiger auf. — Die Grösse der Kernvakuole, in der der Nukleolus liegt, hängt nach Wasielewski bei gleichem Objekt (Wurzeln von Vicia faba) hauptsächlich von der Art des Fixirungsmittels ab; eine grosse Vakuole liefert Sublimat und insbesondere die Salpetersäure enthaltenden Gemische. Dagegen ist dieselbe ganz oder fast ganz verschwunden bei Pikrinsäure, Chromosmiumsäure u. s. w. Die meisten Fixirungsflüssigkeiten halten zwischen diesen Extremen die Mitte. Auch die Struktur des Zellplasmas, ob mehr körnig, fädig oder vakuolig, scheint ganz von dem gebrauchten Fixirungsmittel abzuhängen. Ueber Centrosomen vergleiche das unter diesem Artikel Gesagte, ausserdem Fischer.

Als geeignete Objekte für Kerntheilung im allgemeinen sind folgende zu empfehlen:

Wurzelspitzenlängsschnitte von Keimpflanzen (s. Keimung) von Vicia faba (Kerntheilung hauptsächlich von 11—1 Uhr vormittags), die dünnen Nebenwurzeln sind leichter als die dicke Hauptwurzel zu fixiren, Podophyllum peltatum, Allium cepa, Hyacinthus orientalis, alle mit langem Chromosom. Für einzelne Stadien: für Längsspaltung der Chromosome, ebenso für ihr Auseinanderweichen: die erwähnten Vicia faba-Wurzeln, für Kernfaden mit »geldrollen«artigen Chromatinkörnern: Embryosack der Liliaceen, für Zerfall in Chromosome: Wurzeln von Allium cepa, für Reduktionstheilung, X- und <>-förmige Chromosome: Pollenmutterzellen von Tradescantia und anderen Liliaceen, für das Wiederauftreten des Nukleolus: Wurzeln von Zea Mays. Strukturveränderung des Chromatins infolge von Reizung: Droseratentakel (Rosenberg, Huie), Orchideenwurzeln (Neottia) mit endotropher Mycorrhiza (W. Magnus).

Ueber die Untersuchungsmethoden durch Differenziren der einzelnen Bestandtheile, durch Verdauen und Härten s. Zellchemie (vergl. auch Konjugaten).

Färbung. Ebenso wie für die Fixirung sind auch zum Färben der Pflanzenzellen ziemlich alle Methoden der thierischen Histologie zur Anwendung gekommen, doch sind es auch hier nur relativ wenige, welche allgemeiner benutzt werden. Fast ganz scheiden die Stückfärbungen, das Durchfärben der ganzen Objekte, aus, da die pflanzliche Membran theils die Farbe selbst beim Eindringen speichert, theils ihr überhaupt den Eintritt verwehrt. Empfohlen wird Parakarmin nach Härtung in Alkohol von 60% für Wurzelspitzen von Allium, Solanum etc. Nach Fixirung mit Chromsäuregemischen gelingt schwer eine Färbung mit Boraxkarmin (Nemec). — Der Flemming'schen Fixirung lässt man mit bestem Erfolg die Flemming'sche Dreifachfärbung folgen, die bei richtiger Anwendung eine sehr feine Differenzirung der einzelnen Strukturbestandtheile hervorruft, wenn auch gerade sie durch ihre Launenhaftigkeit wenig geeignet ist, aus den Farbentönen selber Schlüsse zu ziehen, z. B. aus Violettfärbung auf ruhendes Chromatin oder aus Rothfärbung auf Nukleolarsubstanz. Ist die Fixirung »gut« gelungen, so sollen sein: Gerüst der ruhenden Kerne violett, Nukleolen roth, Chromosomen roth, Plasma matt gräulichbraun, Spindelfasern (Kinoplasma) im Gegensatz hierzu hellblau (bei vielen Objekten jedoch nicht zu erzielen, am besten bei Liliaceen), Polkappen dunkelgrau. Die Färbung hat im Bonner botanischen Institut (Strasburger) folgende Ausarbeitung gefunden: Die Objektträger mit den entparafinirten Präparaten kommen für etwa 12 Stunden (1 Nacht) — es genügen auch manchmal 1—2 Stunden — in eine 1%ige Lösung von Safranin (Grübler spirit. lösl.) in Alk. abs., der durch das gleiche Volumen Wasser verdünnt ist. Hierzu werden einige Tropfen Anilinwasser gefügt. Nach Abspülen mit Wasser wird mit sehr schwach salzsaurem (1/10%) 70%igen Alkohol schnell differenzirt und in absolutem Alkohol ausgewaschen. Das Präparat enthält jetzt vortheilhaft noch mehr Safranin, als

die endgiltige Färbung haben soll. Der Alkohol wird in Wasser abgespült und die Schnitte in koncentrirte wässerige Gentianaviolettlösung übertragen, in der sie 1/2—5 Minuten, meist 2 bleiben. Es richtet sich dies ganz nach dem Objekt und wechselt bei nahe verwandten Pflanzen. Die Objekte werden abgespült mit noch gerade röthlich erscheinender Orange G-Lösung (etwa 1 Ccm. koncentrirt plus 5 Ccm. destillirten Wassers), 10 Sekunden bis 1 Minute oder auch länger, mit absolutem Alkohol ausgewaschen, bis keine groben Gentianaflocken herausgehen, dann in Nelkenöl so lange differenzirt und unter dem Mikroskop kontrollirt, bis die gewünschte Tönung erzielt ist, schliesslich in Kanadabalsam eingebettet. — Wird die Flemming'sche Färbung nach anderer als Flemming'scher Fixirung oder ähnlichen Gemischen gebraucht, besonders nach Alkoholfixirung, sollte der Färbung eine 24stündige Beize mit durch Oxydation gebräunter 1%iger Chromsäure vorausgehen, dann etwa 2 Stunden mit Wasser auswaschen, eventuell muss mit Alkohol nachgehärtet werden.

Besonders nach Fixirung mit Sublimatgemischen wird, namentlich zur scharfen Hervorhebung der Nukleolen, Fuchsin-Jodgrün gebraucht. Die Präparate kommen zunächst für etwa 8 Minuten in ein frisch bereitetes Gemisch von 1 Vol. koncentrirter wässeriger Fuchsinlösung + 9 Volumen 0,1%iger wässeriger Jodgrünlösung. Sie werden ausgewaschen in einem Gemisch von 100 Ccm. absoluten Alkohols + 1 Ccm. Eisessig + 0,1 Grm. Jod, ohne vorheriges Auswaschen in reinem Alkohol direkt mit Xylol aufgehellt, schliesslich in Kanadabalsam eingeschlossen. Die Resultate sind nicht sehr zuverlässig, bei zu kurzem Verweilen der Farblösung ist nur der grüne Farbstoff eingelagert, bei längerem Verweilen erscheint dagegen die scharf differenzirte Doppelfärbung, bei sehr langer Tinktion geht schliesslich die grüne Färbung immer mehr in Violett und Rothviolett über (Zimmermann). Oefters angewendet wird auch die Biondi'sche Färbung. Noch nicht recht erprobt ist die Romanowsky'sche Eosin-Methylenblaufärbung (s. Malariaparasiten). Von unter Umständen zu empfehlenden Hämatoxylinlösungen kommen ausser dem Heidenhain'schen Hämatoxylineisenalaun das P. Mayer-sche Hämalaun (s. Hämatein) in Betracht (Zimmermann) und das Hämatoxylin nach Ehrlich für Myxomyceten (Jahn).

Litteratur: Strasburger (Gr. bot. Pract. 1897), Treub (Naturh. Verh. d. k. Akad., XIX, Amsterdam, 1878), Strasburger (Bot. Zeit. 1900), Demoor (Arch. Biol., XIII, 1894), Zacharias (Ber. d. deutsch. bot. Ges., XX, 1902), Miehe (Flora, 1901, Bd. 88), Overton (Zeit. wiss. Mikr., VII), W. v. Wasielewski (Zeit. wiss. Mikr., XVI, 1899), Mottier (Jahrb. wiss. Bot., XXX, 1897), Hof (Bot. Centr., 76, 1898), Rosen (Cohn's Beitr., Bd. 7), Strasburger (Jahrb. wiss. Bot. XXVIII, 1895), Schaffner (Journ. appl. Mik., II. 1900), Fischer (Fixirung, Färbung u. Bau d. Protoplasmas, Jena 1898), Rosenberg (Phys. cyt. Unters. an Drosera rotundifolia, Upsala 1899), Huie (Quarterl. Journ. Mikr. Sc., London 1897, 1899), W. Magnus (Jahrb. wiss. Bot., XXXV, 1900), Nemec (Flora, 86, 1899), Jahn (Festschr. f. Schwendener), Zimmermann (Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkerns. Eine kritische Literaturstudie, Fischer, Jena 1896, enthält sorgfältig alle bis dahin über den Zellkern der Pflanzen gemachten Angaben.

Magnus, Berlin.

Phaeophycaceen siehe Centrosomen pflanzlicher Zellen, siehe auch Chromatophorenfarbstoffe der Pflanzen.

Phenol siehe Karbolsäure.

Phenylenbraun, Syn. für Bismarckbraun.

Phenylhydrazin, $C_6H_5—NH—NH_2$, farblose Krystallmasse, die bei 23° zu einem farblosen Oele schmilzt. Spec. Gew. 1,091 bei 21°. In kaltem Wasser sehr schwer, in Alkohol und Aether leicht löslich. Phenylhydrazin ist ein wichtiges Reagens auf Aldehyde und Ketone, mit denen es unter Wasseraustritt Hydrazone bildet. Mit einem Ueberschuss von Phenylhydrazin in verdünnter essigsaurer Lösung erwärmt bilden Monosaccharide

(Monosen) einen Niederschlag, ein Osazon, von charakteristischem Schmelzpunkte.

Van der Spek und Unna verwenden u. a. auch Phenylhydrazin bei der Darstellung der Plasma- und Mastzellen, und zwar in wässeriger, besonders aber in 10%iger alkoholischer Lösung (vergl. auch pag. 792).

Litteratur: van der Spek und Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 13, 1891).

Mosse, Berlin.

Phloridzin siehe Glykoside.

Phloroglucin, $C_6H_3(OH)_3$, symmetrisches Trioxybenzol, entsteht durch Kalischmelze aus vielen Harzen und Balsamen; auch durch Sauerstoffaufnahme aus niederen Phenolen, besonders aus Resorcin.

Phloroglucin krystallisirt mit zwei Molekülen Wasser in grossen, an der Luft verwitternden Prismen. Es schmilzt bei 218° und sublimirt unzersetzt. Es löst sich in Wasser, Alkohol und Aether. Die wässerige Lösung, die deutlich süss schmeckt, giebt mit Bleizuckerlösung eine flockige weisse Fällung; mit etwas Eisenchlorid entsteht eine violette Färbung.

Phloroglucin reagirt bald als Phenol

```
     C(OH)  CH
     /====\
CH<        >C(OH),
     \====/
     C(OH)  CH
```

bald als Triketon

```
       CO   CH2
      /---\
CH2<       >CO
      \---/
       CO   CH2
```

(Triketohexamethylen); beide Formen scheinen »tautomer« zu sein.

Phloroglucin verbindet sich bei Gegenwart von Mineralsäuren mit vielen Aldehyden zu schwer löslichen Verbindungen, die häufig intensiv und charakteristisch gefärbt sind. Darauf beruht die Farbenreaktion, die Phloroglucin mit Pentosen (Holzfaser) giebt.

Das Phloroglucin ist durch Andeer in die Mikrotechnik eingeführt worden als Zusatzmittel zu Entkalkungsflüsssigkeiten. Näheres siehe bei Knochen und Zähne, vergl. auch Zucker in pflanzlichen Geweben, Zellmembranen, pflanzliche und Eiweissstoffe der Pflanzenzelle.

Neuberg, Berlin.

Phloxin vergl. Eosin.

Phosphor. Zum Nachweis von Phosphor in den Geweben bringen Lilienfeld und Monti Schnitte von frischem oder in Alkohol fixirtem Material für einige Minuten bis mehrere Stunden in eine Lösung von molybdänsaurem Ammoniak. Die Schnitte werden dann gründlich ausgewaschen, solange bis Pyrogallol keine Verfärbung des Waschwassers mehr giebt und in eine 20%ige Lösung von Pyrogallol für einige Minuten übertragen, dann auswaschen in Wasser, Alkohol, Xylol, Balsam. An phosphorreichen Stellen entsteht Braun- bis Schwarzfärbung.

Heine behandelt Celloidinschnitte 15 Minuten im Reagensrohr mit einer Lösung von molybdänsaurem Ammoniak, giesst dann ab und wäscht mehrmals mit Wasser aus. Sodann wird für 10—15 Minuten gesättigte Zinnchlorürlösung aufgegossen, mit Alkohol ausgewaschen, Oel, Balsam.

Macallum geht ähnlich vor, benutzt aber als Reduktionsmittel nicht Zinnchlorür, sondern eine 1—4%ige wässerige Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin.

Litteratur: Lilienfeld und Monti (Zeit. physiol. Chemie, Bd. 17, 1892), Heine (ebenda, Bd. 22, 1896), Macallum (Proc. Roy. Soc., Bd. 63, 1898).

Phosphormolybdänsäure, $2 H_3 PO_4 + 24 MoO_3$, gelbe, leicht in Wasser lösliche Prismen. Phosphormolybdänsäure, nach ZIMMERMANN zweckmässig in 10%iger Lösung angewandt, ist Fällungsmittel für Proteïnstoffe, sowie für Alkaloide. Siehe Eiweissstoffe der Pflanzenzelle. Im übrigen hat die Säure in der mikroskopischen Technik vor allem in Verbindung mit Hämatoxylin Verwendung gefunden, von MALLORY zur Tinktion des Nervensystems (siehe Hämatoxylin), sowie von RIBBERT zur Darstellung der Bindegewebsfibrillen. SARGENT geht etwas anders wie MALLORY vor; das Nervensystem wird in 10%iger Formollösung fixirt, in 5%iger Formollösung aufgehoben, in Wasser abgewaschen, für 24 Stunden in 5%ige Kupfersulfatlösung gelegt; es wird in Paraffin eingebettet, die Schnitte kommen 15—30 Minuten in eine Lösung, bestehend aus 1 Ccm. 10%iger Phosphormolybdänsäurelösung, 1 Grm. krystallisirtes Hämatoxylin, 10 Grm. Chloralhydrat, 400 Ccm. Wasser.

Dann benutzt BERKLEY die Phosphormolybdänsäure zur Darstellung der Lebernerven. Er fixirt in MÜLLER'scher Lösung, dann in Osmiumbichromat und setzt dann je 2 Tropfen einer 10%igen Phosphormolybdänsäurelösung zum Silberbade nach GOLGI.

Ueber die Darstellung der Knochenelemente durch Färbung mit Thionin und Differenzirung mit Phosphormolybdänsäure siehe bei Knochen und Zähne.

Litteratur: BERKLEY (HOPKIN'S Hosp. Rep., Bd. 6, 1897), MALLORY (Anat. Anz., Bd. 6, 1891), RIBBERT (Centr. allg. Path., Bd. 8, 1896), SARGENT (Anat. Anz., Bd. 15, 1898).

Mosse, Berlin.

Phosphorwolframsäure. Verbindungen der Wolfram- und Phosphorsäure in Form von krystallisirten Salzen. Wie die Phosphormolybdänsäure dient die Phosphorwolframsäure als Reagens auf Alkaloide.

Auch ihre Verwendung in der mikroskopischen Technik erfolgt zu denselben Zwecken, wie die Phosphormolybdänsäure. Siehe Hämatoxylin, ferner Knochen und Zähne. Neuerdings geht MALLORY zur Darstellung der Neuroglia folgendermassen vor: die Gewebsstücke kommen für wenigstens 4 Tage in eine 4%ige wässerige Lösung von Formaldehyd (10% Formol); dann 4 Tage oder länger in eine gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung, dann 4 Tage im Brütofen in eine 5%ige wässerige Lösung von doppeltchromsaurem Ammoniak, die jeden Tag zu wechseln ist. Die Celloidinschnitte kommen für 15—30 Minuten in eine ½%ige wässerige Lösung von übermangansaurem Kali, werden in Wasser ausgewaschen, dann für 15—30 Minuten in eine 1%ige wässerige Oxalsäurelösung übertragen, in Wasser ausgewaschen und 12—24 Stunden oder länger gefärbt in einer Lösung von 0,1 Hämatoxylin, 80 Wasser, 20 10%ige wässerige Lösung Phosphorwolframsäure (MERCK), 0.2 Wasserstoffsuperoxyd. Dann wird rasch in Wasser ausgewaschen, in 95%igem Alkohol schnell entwässert etc. Sollen jetzt nur die Neurogliafasern dargestellt werden, so kommen die Schnitte 5—20 Minuten in eine 30%ige alkoholische Eisenchloridlösung.

Litteratur: MALLORY (Journ. expr. Med., Bd. 5, 1900).

Mosse, Berlin.

Phosphorsäure, Acidum phosphoricum, dreibasische Phosphorsäure, Orthophosphorsäure, $H_3 PO_4$, wird entweder durch Digeriren von Knochenasche mit Schwefelsäure (Ac. phosphoricum ex ossibus) oder durch Zerfliessenlassen von Phosphor in feuchter Luft erhalten (Ac. phosphoricum e phosphoro). Sie bildet farblose, rhombische Krystalle, die bei 38,6% schmelzen, leicht an der Luft zerfliessen und auch in Alkohol leicht löslich sind. Die officinelle Phosphorsäure ist eine 25%ige wässerige Lösung der krystallisirten Säure. Die Phosphorsäure koagulirt im Gegensatz zur Metaphosphorsäure Eiweisslösungen nicht.

Die Phosphorsäure ist in der Mikrotechnik bis jetzt nur zum Entkalken benutzt worden. (Näheres siehe Knochen und Zähne.)

Photoxylin siehe Celloidin.

Phycocyan, Phycoërythrin, Phycophaeïn, Phycoxanthin siehe Chromatophorenfarbstoffe der Pflanzen.

Pialyn siehe Enzyme.

Pigment. Zur Fortschaffung des Pigments aus mikroskopischen Präparaten bedient man sich entweder starker Oxydationsmittel oder Reduktionsmittel oder schliesslich Lösungsmittel.

Zur ersten Gattung gehört vor allem das Chlor in statu nascendi, wie es bei der Einwirkung von Salzsäure auf chlorsaures Kali erhalten wird. Man giesst auf einige Krystalle dieses Salzes 2 oder 3 Tropfen Salzsäure, und sobald sich Chlor zu entwickeln beginnt, 70%igen Alkohol darauf. In diese Mischung eingelegt, wird das Pigment im Laufe von 1—2 Tagen zerstört. Auch chlorhaltige Flüssigkeiten, wie Eau de Javelle und Eau de Labarraque, können dem gleichen Zwecke dienen. Ganz ähnlich wie Chlor wirkt Brom in wässeriger Lösung. Von anderen Oxydationsmitteln kommen zum Bleichen des Pigments noch zur Verwendung das Wasserstoffsuperoxyd (in 3—10%iger Lösung), das Kaliumpermanganat (die Objekte müssen dann natürlich durch ein Reduktionsmittel wieder entfärbt werden ([wie Oxalsäure, Chromogen etc.]) und die Peroxyde und Persulfate des Natriums, Ammoniums und Magnesiums.

Von Reduktionsmitteln ist hauptsächlich die schweflige Säure zu erwähnen in alkoholischer Lösung.

Lösungsmittel für viele Pigmente bilden die Mineralsäuren, Salzsäure und Salpetersäure und auch die Natronlauge. Meist verwendet man die Säuren und auch die Lauge zu diesem Zwecke in alkoholischer Lösung.

Pikrinsäure oder Trinitrophenol, $C_6 H_2 (NO_2)_3 OH$, wird in der Technik durch Lösen von Karbolsäure (Phenol) in koncentrirter Schwefelsäure und Erhitzen der so erhaltenen Phenolsulfosäure mit koncentrirter Salpetersäure gewonnen; die rohe Säure wird dann mit Natriumkarbonat neutralisirt, das Natriumpikrat aus der heissen Lösung durch Eintragen von Natriumkarbonat ausgefällt und daraus durch verdünnte Schwefelsäure die Pikrinsäure von neuem frei gemacht. Krystallisirt in hellgelben Blättern, lässt sich sublimiren, schmeckt äusserst bitter, reagirt sauer, ist giftig, färbt Seide und Wolle ohne Beize dauerhaft gelb und explodirt nicht durch Schlag. Löslich: schwer in kaltem Wasser (100 Th. lösen bei 15—20° etwa $1^1/_4$ Th.), leicht in heissem; es empfiehlt sich der besseren Dosirung halber, in der Mikrotechnik nicht die sogenannte koncentrirte wässerige Lösung zu benutzen, sondern eine 1%ige oder $^1/_2$%ige (Mayer); ferner (nach eigenen Ermittelungen) ziemlich leicht in Alkohol (100 Ccm. absoluter lösen bei 25° C reichlich 7 Grm.), noch leichter in Benzol, Toluol und Xylol (von diesem lösen 100 Ccm. etwa 14 Grm.), dagegen viel weniger leicht in Aether (100 Ccm. lösen etwa 2 Grm.). Von den Salzen, die wohl alle stark explosibel sind, werden mikrotechnisch zum Färben verwandt in erster Linie das Ammoniumpikrat, aber auch das Magnesiumpikrat (Mayer), Calciumpikrat (White), Lithiumpikrat (Orth) und Natriumpikrat (Löwenthal), ferner zum Versilbern das Silberpikrat (Alferow).

Verwendung der Pikrinsäure zum Fixiren.

In wässeriger Lösung muss sie stark angewandt werden, da schwache Lösungen maceriren; man nimmt also entweder die gesättigte oder eine

1%ige oder ½%ige und lässt die Objekte je nach ihrer Grösse darin eine Minute bis 24 Stunden oder auch länger. Sie wirkt sehr rasch und dringt auch relativ gut in die Tiefe, geht aber mit den Geweben keine stabile Verbindung ein, da sie sich mit Alkohol (auch mit Wasser) wieder ganz daraus entfernen lässt, und härtet sie daher auch nicht. Mithin ist es schädlich, sie mit Wasser auszuwaschen, vielmehr soll man gleich Alkohol von 70% anwenden. Ebenso vermeidet man am besten zum Färben wässerige Gemische, mit Ausnahme vielleicht derer, die selber etwas härten (Hämalaun etc.). Bei gewöhnlicher Temperatur dauert das Auswaschen dichter Gewebe sehr lange; rascher geht es im Brütschrank (Fol) oder bei Zusatz von etwas Lithiumkarbonat (in wässeriger Lösung), weil sich dann das leicht lösliche Lithiumpikrat bildet (Jelinek); übrigens ist zum Färben mit Karmalaun oder Parakarmin die völlige Entfernung der Pikrinsäure nicht nöthig.

Für Seethiere ist mitunter die koncentrirte Lösung der Pikrinsäure in Seewasser gut (Giesbrecht), desgleichen mit einem geringen Zusatz von Osmium- und Essigsäure.

In alkoholischer Lösung ist die Pikrinsäure bisher nur vereinzelt angewandt worden, und es ist auch nicht sicher, wie weit die Resultate der Fixirung der Säure oder dem Alkohol zuzuschreiben sind.

Im Gemisch mit anderen Fixirmitteln wird die Pikrinsäure viel gebraucht; so mit Formol, Platinchlorid, Sublimat oder Osmiumsäure, aber auch mit anderen Säuren, wie Essigsäure, Salpetersäure, Salzsäure und Schwefelsäure etc. Wahrscheinlich dringen diese wie überhaupt wohl alle Gemische nicht unverändert in die Gewebe ein, sondern von ihren Komponenten gelangen die einen tiefer als die anderen; sicher gilt dies von den Gemischen mit Osmiumsäure, wo die Pikrinsäure sehr viel tiefer vordringt, während die Osmiumsäure sich fast ganz auf die Oberfläche beschränkt.

Die wässerige Lösung der Pikrinsäure dient auch wohl zum Auswaschen der Chromsäure aus den Geweben (Korschelt) oder zum Entkalken (s. oben pag. 652), wozu sich übrigens auch die alkoholische Lösung verwenden lässt; zum Maceriren von Epithelien und Muskeln wird von Gage eine $^1/_{10}$%ige Lösung in Drittelalkohol empfohlen.

Pikrinessigsäure. 1. Nach Boveri: koncentrirte wässerige Lösung von Pikrinsäure 100, Wasser 200, Essigsäure 3 Raumtheile. Für die Eier von Ascaris und Echinodermen. Auswaschen mit Alkohol von 70%. — 2. Nach Davidoff: koncentrirte wässerige Lösung von Pikr. 3, Essigsäure 1 Raumtheil. Für die Eier von Tunikaten. Nachbehandlung ebenso. — 3. Nach Bouin: koncentrirte wässerige Lösung von Pikr. 15, Formol 5, Essigsäure 1 Th. Für die Hoden von Cavia. In diesem Gemisch überwiegt nach Lee die Wirkung des Formols. Die Nachbehandlung wird vom Autor nicht angegeben, wahrscheinlich aber werden die Objekte direkt in Alkohol von 60% gebracht.

Pikrinchromsäure nach Fol: koncentrirte Lösung von Pikrinsäure in Wasser 10, 1%ige Chromsäurelösung 25, Wasser 65 Raumtheile. Auswaschen mit fast kochendem Wasser, später mit Alkohol. — Nach Lo Bianco: gleiche Raumtheile von Pikrinschwefelsäure und 1%iger Chromsäurelösung.

Pikrinchromsalpetersäure nach Rawitz: Pikrinsalpetersäure 1, 1%ige Chromsäurelösung 4 Raumtheile. Nach 24 Stunden mit 70%igem Alkohol auszuwaschen. Für Zelltheilungen bei Salamandra.

Pikrinosmiumessigsäure nach vom Rath: koncentrirte wässerige Lösung von Pikrinsäure 100, 2%ige Lösung von Osmiumsäure 6, Essigsäure 1 Raumtheil. Kleine, leicht permeable Objekte bleiben nur ¼ bis 1 Stunde, grosse 24—48 Stunden in diesem Gemisch und kommen dann direkt in Alkohol von 75%. Färben in toto (am besten bei 55—58° C) mit Safranin in 30%igem Alkohol oder mit Boraxkarmin etc., Färben der Schnitte mit »Hämatoxylin«.

Pikrinosmiumsalpetersäure nach RAWITZ: Pikrinsalpetersäure 6, $2^0/_0$ige Lösung von Osmiumsäure 1 Raumtheil. Nach $^1/_2$—3 Stunden Auswaschen mit $70^0/_0$igem Alkohol. Für sehr zarte Gewebe.

Pikrinplatinchloridessigsäure nach VOM RATH: koncentrirte wässerige Lösung von Pikrinsäure 200 Ccm., Platinchlorid 1 Grm. (in 10 Ccm. Wasser gelöst), Essigsäure 2 Ccm. Hierzu 12 oder 25 Ccm. einer $2^0/_0$igen Lösung von Osmiumsäure = Pikrinosmiumplatinchloridessigsäure. Kleine Objekte sind oft schon in $^1/_4$ Stunde fixirt, grosse erst nach Tagen; hierbei ist die Flüssigkeit zu wechseln. Auswaschen mit Alkohol von $75^0/_0$, von $95^0/_0$ und $100^0/_0$, dann recht lange Färben mit »Hämatoxylin« oder Eisenhämatoxylin. Oder: Abspülen mit Methylalkohol, dann auf 12—24 Stunden Einlegen in recht unreinen Holzessig (oder $20^0/_0$ige wässerige Lösung von Tannin), wieder Abspülen mit Methylalkohol, Uebertragen in Alkohol von $75^0/_0$, $95^0/_0$ und $100^0/_0$; im $95^0/_0$igen müssen die Objekte so lange verweilen, bis der öfter gewechselte Alkohol farblos bleibt. Nachfärbung meist unnöthig.

Pikrinsublimatessigsäure, Pikrinsublimatosmiumsäure und Pikrinsublimatosmiumessigsäure (alle drei nach VOM RATH), s. bei Sublimat, desgleichen RABL's Gemisch von Pikrinsäure und Sublimat.

Ueber die Gemische mit Formol, s. pag. 402 und bei Pikrinessigsäure.

Pikrinsalpetersäure nach MAYER: Wasser 100, Salpetersäure von $25^0/_0$ N_2O_5 5 Raumtheile, dazu Pikrinsäure bis zur Sättigung. Auswaschen mit $70^0/_0$igem Alkohol oder rascher (nach LIST) mit $90^0/_0$igem Alkohol, dem $2^0/_0$ Salpetersäure zugesetzt worden sind. Dieses und das folgende Gemisch haben vor der Pikrinschwefelsäure das voraus, dass sie in kalkhaltigen Geweben keinen Gips niederschlagen; speciell die Pikrinsalpetersäure vereinigt die guten Eigenschaften ihrer beiden Komponenten als Fixirmittel.

Pikrinsalzsäure nach MAYER: Wasser 100, Salzsäure von $25^0/_0$ acht Raumtheile, dazu Pikrinsäure bis zur Sättigung. Auswaschen mit $70^0/_0$igem Alkohol.

Pikrinschwefelsäure. Dieses vor zwei Decennien sehr gerühmte, neuerdings aber ziemlich in Vergessenheit gerathene Fixirmittel existirt in mehreren Varianten. KLEINENBERG nämlich fügt zu 100 Raumtheilen einer gesättigten Pikrinsäurelösung in Wasser 2 Raumtheile Schwefelsäure hinzu, filtrirt von dem reichlichen Niederschlag ab und verdünnt das Filtrat mit dem dreifachen Volum Wasser. Ferner empfiehlt er den Zusatz von soviel Kreosot aus Buchenholztheer, wie sich lösen will, oder auch von $2^0/_0$ Chlornatrium, um Schrumpfungen (bei den Wurmlarven) zu vermeiden. Das Kreosot soll Schwellungen verhüten. Nach FOL lässt sich dies durch Zusatz von $^1/_3$ Volum $1^0/_0$iger Chromsäure erzielen. — WISTINGHAUSEN hingegen fügt zu 100 Vol. gesättigter Lösung von Pikrinsäure 300 Vol. Wasser und 2 Vol. Schwefelsäure, behält also alle Pikrinsäure im Gemisch. — MAYER sättigt eine $2^0/_0$ige Schwefelsäure (100 Vol. destill. Wasser, 2 Vol. koncentrirte Schwefelsäure) mit Pikrinsäure, von der sich aber nur etwa $^1/_4{}^0/_0$, also viel weniger als in reinem Wasser löst. Dies ist die koncentrirte Pikrinschwefelsäure, und aus ihr wird durch Verdünnen mit dem dreifachen Quantum Wasser die gewöhnliche Pikrinschwefelsäure erhalten. — LANGENBECK endlich verfährt wie KLEINENBERG, nimmt aber zum Lösen der Pikrinsäure Seewasser.

Von obigen Gemischen wird gewöhnlich das von KLEINENBERG angewandt und das starke MAYER'sche nur für specielle Objekte, besonders Arthropoden benutzt. Das Umgekehrte dürfte aber richtiger sein. Die Behandlung der Objekte ist in beiden Fällen gleich: man lässt sie 3 oder mehr Stunden in der Flüssigkeit, bringt sie dann sofort auf 5—6 Stunden in Alkohol von $70^0/_0$, endlich in solchen von $90^0/_0$, der so oft gewechselt wird, bis die gelbe Farbe ganz verschwunden oder wenigstens viel heller geworden ist.

Warmer Alkohol zieht die Säure viel rascher aus als kalter. Das Auswaschen mit Wasser ist zu verwerfen.

Die Vorzüge der Pikrinschwefelsäure bestehen darin, dass sie die Gewebe sehr rasch tödtet, sehr gut eindringt, sich aus den Geweben mit Alkohol völlig entfernen lässt (viel leichter als die reine Pikrinsäure) und sie auch für die Färbung in geeignetem Zustande erhält. Sie hat aber wohl noch grössere Nachtheile (die Schwefelsäure bringt bei Vertebraten das Bindegewebe zum Quellen; aus Gewebe mit viel Kalk löst sie diesen und schlägt ihn dann als Gips darin nieder etc.) und ist daher jedenfalls für feinere Untersuchungen nicht empfehlenswerth. Die Pikrinschwefelsäure wird auch wohl im Gemisch mit Chromsäure, Essigsäure, Kaliumbichromat, Osmiumsäure und Sublimat angewandt.

Litteratur: Lee und Mayer (Mikrotechnik, 2. Aufl., 1901, pag. 54 ff., etc.), vom Rath (Zur Konservirungstechnik in: Anat. Anz., Bd. 11, 1895, pag. 280 ff.). *Mayer*, Neapel.

Pikrokarmin siehe Karmin, pag. 640 ff.

Pikronigrosin siehe Nigrosin.

Pilocarpin. Das Pilocarpin ist ein in den Blättern von Pilocarpus pennatifolius, einer brasilianischen Rutacee, vorkommendes Alkaloid, aus welchen es durch Extraktion mittels ammoniakalischen Alkohols erhalten wird. Es bildet eine alkalische, in Wasser wenig lösliche, halbflüssige Masse, die mit Säuren krystallisirbare Salze liefert. Unter den letzteren ist das Pilocarpinum hydrochloricum das wichtigste. Es stellt farblose, hygroskopische schwach sauer reagirende, in Wasser und Alkohol leicht lösliche Krystalle dar. Das salpetersaure Salz ist schwerer löslich.

Das Pilocarpin wird in der experimentellen Physiologie und Histologie vielfach benutzt, um die Absonderungsthätigkeit mancher Drüsen anzuregen, z. B. Speicheldrüsen, Pankreas, Schweissdrüsen. Man giebt gewöhnlich ein bis mehrere Kubikcentimeter einer 0,1%igen Lösung des salzsauren Salzes subkutan oder intravenös. Die Verabreichung sehr grosser Dosen, über 0,1 Grm., wirkt dagegen lähmend auf die sekretorischen Fasern (vergl. auch Alkaloide).

Pilze. Im Gegensatz zu den Myxomyceten (s. diese) oder Schleimpilzen stehen die Hyphomyceten oder Fadenpilze auch Eumyceten genannt, welche immer oder wenigstens während des grössten Theils ihrer Entwicklung eine schlauchförmige, dünnere oder dickere Membran besitzen, die ein meist farbloses Plasma mit einem oder vielen Zellkernen, auch Fetttröpfchen, aber nie Stärkekörner einschliesst. Da sie auch kein Chlorophyll besitzen, ernähren sie sich nie autotroph, sondern sind stets Parasiten oder Saprophyten. Im Folgenden sollen in der Reihenfolge ihrer systematischen Stellung die Untersuchungsmethoden der auf faulenden organischen Stoffen auftretenden Fadenpilze, der sogenannten Schimmelpilze, ebenso wie der sich eng anschliessenden thierparasitären Formen geschildert werden. Ferner erschien es im Hinblick auf die Häufigkeit ihres Auftretens bei den zur mikroskopischen Untersuchung gelangenden Objekten zweckentsprechend, in aller Kürze auch auf ihre Systematik und Entwicklungsgeschichte hinzuweisen.

Bei den den Algen am nächsten stehenden Phycomyceten ist es zu einer Scheidewandbildung im allgemeinen noch nicht gekommen, sondern das ganze Mycel des Pilzes stellt eine einzige Zelle dar. Die Fortpflanzung ist geschlechtlich oder ungeschlechtlich. Bei der ersten Unterklasse, den Oomyceten, geschicht die ungeschlechtliche Fortpflanzung fast stets mittels Schwärmsporen mit 1 oder 2 Geisseln, die geschlechtliche durch weibliche Oogonien und männliche Antheridien, in denen bei der niedrigsten Gruppe, den Monoblepharoideen (Monoblepharis an faulenden Stoffen im Wasser), noch wohl entwickelte Spermatozoiden erzeugt werden, während sonst Befruchtungsschläuche aus den Antheridien in die

Oogonien wachsen und die männlichen Elemente, zumal den Zellkern, hinüberführen. Hierher gehören die überall im Wasser auf faulenden Organismen lebenden, sie mit einer weissen Wolke überziehenden Saprolegniaceen Achlya, Saprolegnia. Nach wenigen Tagen kann man sich leicht jederzeit Saprolegnia verschaffen, wenn man eine todte Fliege in Wasser wirft, am besten aus einem Tümpel oder Aquarium (meist aber auch schon in Leitungswasser), oder noch besser auf Mehlwürmern (Larven von Tenebrio molitor). Die Einzelheiten der Entwicklung (Schwärmsporenbildung, Anlage von Oogonien und Antheridien) werden dann am Hängetropfen in der feuchten Kammer beobachtet. Nahe verwandt sind ihnen neben den auch starke Pflanzentumoren verursachenden, intercellular lebenden Chytridiaceen die lebende Insekten befallenden und tödtenden Entomophtoraceen, deren bekanntester Vertreter Empusa muscae im Herbst den Stubenfliegenschimmel verursacht. Die Mycelä-te brechen aus dem Hinterleib hervor und erzeugen Konidien, welche weithin abgeschleudert werden. Sie keimen leicht auf der Bauchhaut gesunder Fliegen, dringen in die Haut ein, bilden durch Sprossung rundliche Zellen, die sich im Blut verbreiten und so eine neue Infektion hervorrufen. Die gleichfalls hierhergehörenden Peronosporeen bilden die Hauptmasse des Schimmels auf lebenden Blättern, von denen die wichtigste die Kartoffelkrankheit Phytophtora infestans; während den Schimmel auf der Blattepidermis die Sporangienträger bilden, werden im Innern des Blattes bei den meisten Formen, aber nicht bei der Kartoffelkrankheit, die Sexualorgane nebst den sehr dickwandigen Oosporen gebildet. Ihr schneller Nachweis geschieht, indem man die Stücke einige Minuten in Alkohol kocht, dann in Salpetersäure bringt, bis das Kochen aufhört, und in destillirtem Wasser auswäscht, schliesslich nochmals in Alkohol kocht (Berlese). Für die vielfach studirten Befruchtungsvorgänge dient Chromessigsäure, da das Osmium der Flemming'schen Lösung das ölreiche Plasma zu sehr schwärzt, zur Färbung Flemming's drei Farben.

Zu der zweiten Unterklasse der Phycomyceten, den Zygomyceten, gehören einige der gewöhnlichsten Schimmelpilze. Die ungeschlechtliche Fortpflanzung geschieht durch unbewegliche Sporen, die in relativ grossen Sporangien gebildet werden, die meist seltene sexuelle Fortpflanzung durch gleichwerthige Gametenzellen, die zur Zygosporenbildung zusammentreten. Ein Stückchen feuchten Brotes unter Luftabschluss unter die Glasglocke gebracht, ist in wenigen Tagen mit einem dicken weissen bis bräunlichen Filz von Mucor mucedo- (Sporen oval) Sporangienträgern 2—3 Cm. oder Mucor racemosus- (Sporen rundlich) Sporangienträgern 1 Cm. bedeckt, an dem sich schon makroskopisch leicht sichtbar die Sporangienträger mit kugelig angeschwollener Spitze (das Sporangium) erheben, daher »Keulenschimmel«. Im Untersuchungswasser des mikroskopischen Präparates zerfliesst das reife Sporangium schnell, indem es die dunklen Sporen, in farblosem Schleim eingebettet, entlässt, während an der Wand feine Nadeln oxalsauren Kalks sichtbar werden. Das unreife Sporangium zerfliesst bei einiger Vorsicht nicht; es ist anfangs gegen den Sporangienträger nicht abgesetzt und ist dann meist schöne Plasmaströmung in longitudinaler Richtung in der Wandschicht zu sehen. Später setzt er sich durch eine vorgewölbte Wand (Columella) ab. Die Zygosporenbildung geschieht, und zwar relativ selten, auf dem für Mucorkultur überhaupt sehr günstigen Nährboden, feuchten Mist; sie sind dann als schwarze Punkte zu erkennen und können durch Ausschlemmen isolirt werden. Ueber andere Kulturangaben vergl. Bainier (Ann. d. sc. natur. bot. ser. VI, Bd. 11). Verbreitet ist auch Mucor stolonifer, der sich mit bogigen Ausläufern etwa wie eine Erdbeere ausbreitet. Als Mucor corymbifer wird ein dem Mucor racemosus ähnlicher von Stiel aus dem Pfropf des menschlichen Gehörganges beschrieben, wie auch eine allgemeine Mucormykose beim Menschen vorzukommen scheint. — Andere Zygomyceten wie Phycomyces nitens, Pilobolus etc. auf frischem Mist. Ueber Membran der Mucorineen vergl. Mangin (Journ. d. Bot., Bd. 13, 1899).

Die Ascomyceten haben ein typisch septirtes Mycel und bilden ihre Hauptfruchtform in Sporangien, die die Form des Ascus oder Sporenschlauches besitzen, der im Inneren eine bestimmte Anzahl von Sporen (n × 2, meist 8) entwickelt. Der Bildung der Asci gehen eigenthümliche Bildungen, »fertile Hyphen«, voraus, die in einigen Fällen in Beziehung zu Befruchtungsvorgängen gebracht werden konnten. Für die schwierige Fixirung dieser Vorgänge ebenso wie die der Kerntheilung und Sporenbildung im Ascus hat sich neben Flemming ($^1/_2$ stark + $^1/_2$ Wasser) und Flemming'scher Färbung das Merkel'sche Gemisch bewährt (Harper). — Vielfach treten als Nebenfruchtform Konidien auf, die die wesentlichsten Elemente der Schimmelpilze bilden und von denen theilweise (Fungi imperfecti) ihre Zugehörigkeit zu bestimmten Ascusformen noch nicht nachgewiesen ist. Bei den einfachsten Formen, den Exoasci, entstehen die Asci frei am Mycel; hierher gehören die in den schleimigen Zersetzungen der Holzgewächse auftretenden Endomycesarten, wie die pflanzenparasitären, vielfach Tumoren verursachenden Exoascus- und Taphrinaarten (Kräuselkrankheit der Pfirsiche, Narrentasche der Pflaumen). Schliesslich gehören hierher wahrscheinlich auch die meisten Hefepilze (s. Hefe).

Bei den meisten Ascomyceten sind aber die fertilen ascustragenden Hyphen von sterilen Hyphen umschlossen, Karpoasci, nach deren Beschaffenheit diese eingetheilt werden 1. in solche mit rings festschliessender Hülle (Perithecien), bei denen die Sporen bei der Reife erst durch Verwesung der Hülle frei werden, Perisporiaceen. Ausser den ausschliesslich auf der Oberfläche pflanzlicher Organe wachsenden Erysipheen, »dem Mehl-

thau« (beim Mehlthau des Weines in Europa nur die Konidienformen als Oidium tuckeri bekannt), gehören hierher die saprophytischen Perisporieen, deren Konidien als die gemeinsten Schimmelpilze auf feuchten Vegetabilien, auf Früchten, Brot u. s. w. auftreten, auf letzterem meist später als Mucor (s. oben). Der »Giesskannenschimmel« Aspergillus (Eurotium herbariorum) und der »Pinsel- oder Brotschimmel« Penicillium (glaucum oder crustaceum), beide blaugrün, sind makroskopisch schwer, mikroskopisch sofort zu unterscheiden. Während beim Giesskannenschimmel auf der kugeligen Endanschwellung des unverzweigten aufrechten Trägers zahlreiche flaschenförmige Zellen aufsitzen, die fortgesetzt an ihrer Spitze kettenförmig zusammenhängende radial ausstrahlende Konidienreihen abgliedern, ist der Konidienträger des Pinselschimmels pinselartig verzweigt und jeder Endast scheidet erst die Konidienketten ab. Die Untersuchung wird besonders bei älterem Material durch die massenhafte Bildung der Sporen, die die Luft stark adhäriren, erschwert, doch genügt zur Vertreibung der Luft meist Zusatz von Alkohol zum Präparat oder auch sehr vorsichtiges Aufkochen unter dem Deckglas. Die Peritecien treten nur bei Eurotium einigermassen häufig — im Innern verschimmelten Brotes, auf feucht liegenden gepressten Pflanzen — als orangegelbe Pünktchen auf; in ihnen sind bei der Reife die Sporen schon frei und die Ascusschläuche nicht mehr zu erkennen. Ausser dem blaugrünen Aspergillus herbariorum ist noch relativ häufig der dunkelbraune A. niger. Blaugrau ist A. fumigatus, ockergelb A. ochoceus. Da die meisten Aspergillen ein Temperaturoptimum gegen 30° haben, sind sie gleichzeitig meist thierparasitär, am häufigsten fumigatus im Trommelfell des Menschen und in der Lunge zumal von Tauben.

Bei den übrigen Unterklassen der Karpoasci, den Pyrenomyceten, Discomyceten und Tuberaceen öffnen sich überall die Peritecien mehr oder weniger regelmässig. Ausser den vielfach auf Insekten auftretenden Isariakonidien, zu denen die auf todten Insekten lebenden Kordycepsperitecien gehören, sind thierparasitäre oder typische Schimmelpilze nicht bekannt.

Von wahrscheinlich durchgehends zu den Ascomyceten gehörenden isolirten Konidienformen (Fungi imperfecti s. oben) werden ihrer Form nach einige wichtige Gruppen unterschieden, die jedoch oft Uebergänge unter einander aufweisen. Auch werden von den einzelnen Autoren unter den gleichen Gattungsnamen verschiedene Formen verstanden. Im allgemeinen werden als Oidien Mycelien bezeichnet, die basipetal an unverzweigten Trägern hyaline Sporen abschnüren, die sich bald von einander trennen. Weiter werden aber dann überhaupt Mycelien verstanden, die die Tendenz haben, zahlreiche Querwände zu bilden, die einzelnen Glieder abzurunden und leicht in sie zu zerfallen, eine Erscheinung, die bei fast allen Pilzgruppen vorkommt und als Chlamydosporenbildung bezeichnet wird. Diese Sporen vermehren sich oft weiter durch einfache Quertheilung. Oidium lactis bildet die Hauptmasse der festen gelblichen Decke auf dicker Milch, ist aber auch sonst als zarter schneeweisser Ueberzug auf Brot, Mist, faulen Früchten etc. sehr häufig. Der Pilz hat schwache Gährwirkung und ist nicht pathogen. Pathogen ist dagegen der früher mit Oidium lactis identificirte Oidium (Trychophyton) tonsurans, die Glanzflechte hervorrufend, der auf Agaragar und Blutserum bei Körperwärme kultivirt weissliche, in der Tiefe gelbliche Rasen bildet. Höchst wahrscheinlich entsprechen die klinisch verschiedenen Fälle der Herpes verschiedenen Pilzrassen. — Oidium Schönleinii ist die Ursache des Favus, er bildet in seinem natürlichen Vorkommen auf der Haut eine von Oidium lactis kaum zu unterscheidende Form, ist aber bei Körperwärme auf Agar, Blutserum, Gelatine etc. kultivirt durch seine Vorliebe ausgezeichnet, in tieferen Schichten des Substrats zu wachsen, und sind vor allem die moosartigen Ausläufer charakteristisch. Die Farbe der Kultur ist anfangs grauweiss, später gelblich. Die Kultur des Oidium (Mikrosporon) furfur, die Ursache der Pityriasis versicolor, scheint noch nicht gelungen zu sein. — Gleichfalls als Oidium wird der leicht kultivirbare Pilz angesehen, der die Piedra, Knotenbildung der Haare, hervorruft. Er hat die Neigung, auf der Oberfläche der Kultur gefaltete und gewulstete Auflagerungen zu bilden. Die Form der Monilia unterscheidet sich dadurch von Oidium, dass die Konidienträger verzweigt und rasig wachsen und die gleichfalls hyalinen Sporen die Tendenz haben, länger im Verband zu bleiben. Die Sporen vermehren sich hier oft durch hefeartige Sprossungen. Monilia candida, das in der Natur als weisse Schicht auf frischem Kuhmist und süssen saftigen Früchten auftritt, ruft, in Würze überführt unter reichlicher Hefesprossung, die mit Saccharomyces cerevisiae grosse Aehnlichkeit hat, Alkoholgährung hervor. Sehr ähnlich der Monilia candida ist der Soorpilz, auch Oidium albicans genannt, der auf Schleimhäuten, hauptsächlich der Mundschleimhaut der Säuglinge die charakteristische Affektion hervorruft. Er ist auf üblichem Nährboden als weisse Kolonien zu kultiviren, auf Kartoffeln, Rüben, Melonen, Milch, gelatinisirter Bierwürze etc. Wachsthumfördernd sind schwache Alkalescenz und reichlicher Sauerstoffzutritt. Je nach den Nährstoffen ist er sehr veränderlich in seiner Hyphenbildung und Hefensprossung. — Monilia cinerea und fructigena, der gewöhnliche Schimmel der Kirschen und Aepfel, graue oder bräunliche Belege bildend, gehören zu einer Sklerotinia. — Botrytis werden Konidienformen genannt, bei denen die Fruchthyphen an der Spitze in kurze dicht stehende Aeste getheilt sind, denen die einzelligen Sporen aufsitzen. Botrytis cinerea, auf Trauben und anderen faulenden Pflanzentheilen häufig, vielleicht zu Sclerotinea fuckeliana auf Weinblättern und Ranken gehörig. Thierparasitär ist Botrytis bassiana, die Muskardinenkrankheit der Seidenraupe verursachend.

Auch Oidum tonsurans wird von einigen Autoren als Botrytis tonsurans hierhergestellt. — Die vielen den obigen ähnlichen Konidienformen, wie Torula, Verticillium etc., scheinen nicht thierparasitär aufzutreten.

Die Hämibasidii und Basidiomyceten bilden nie Sporen innerhalb von Sporangien oder Asci, auch scheint eine eigentlich sexuelle Fortpflanzung nicht vorzukommen. Die einzigen Vertreter dieser Gruppe sind die phytoparasitären Brandpilze oder Ustilagineen. Sie bilden in der Pflanze als Abschluss ihres parasitären Lebens Brandsporen, indem das Mycel durch Querwände in sich stark verdickende Zellen zerfällt: Chlamydosporen (s. Oidien). Die Brandsporen keimen in Nährlösung (in der Natur auf Mist etc.), also in saprophytischer Lebensweise, zu Konidienträgern, die reichlich Konidien abschnüren und sie unter günstigen Lebensbedingungen hefeartig vermehren. Durch das Eindringen in die junge Nährpflanze kehren sie zur parasitären Lebensweise zurück und ihr Mycel wächst mit der Pflanze bis zur Brandsporenbildung mit (s. oben).

Bei den Basidomyceten, die die höchstentwickelten Pilze enthalten, ist die Konidienbildung die Hauptfruchtform geworden, und zwar auf Konidienträgern (Basidie) von ganz bestimmter Form, Grösse und Sporenzahl, meist 4, ausnahmsweise 6 oder 8. Je nachdem die Basidie getheilt ist, so dass jeder Abschnitt eine Spore trägt oder ungetheilt ist, werden Proto- und Automyceten unterschieden. Thierparasitäre oder typische Schimmelpilze kommen nicht vor. Zu den Protobasidiomyceten gehören die auf sehr vielen Pflanzen in den mannigfachsten Arten auftretenden Rostpilze, Uredineen, Rost des Getreides, der Stachelbeere etc. Zu den Autobasiomyceten gehören u. a. der Hausschwamm und alle Hutpilze, die Agaricinen. Vergl. auch Artikel: Myxomyceten, Hefe und Strahlenpilz Aktinomyces.

Als Nährlösung zu Reinkulturen für Pilze kommen ausser den schon bei Hefe genannten hier auch vielfach anzuwendenden, noch Dekokte aus den vom Pilz im natürlichen Vorkommen bewohnten Substraten in Betracht.

Bei Mistbewohnenden stellt man sich den Dekokt am haltbarsten her, wenn man Mist mit Wasser aufrührt, kocht, filtrirt und das Filtrat 24 Stunden im Dampfbade lässt. — Sehr brauchbar ist in vielen Fällen auch ein kalter Auszug von getrockneten Früchten, wie Rosinen, Birnen, Pflaumen. Er wird klar abfiltrirt und bis auf Syrupdicke eingedampft. Er hält sich jahrelang unverändert und kann nach Bedarf mit gut ausgekochtem Wasser verdünnt werden. Reagirt die Flüssigkeit sauer, so wird unter Umständen mit Ammoniak neutralisirt. Sehr gut ist auch oft gekochter und filtrirter Citronensaft. Sein Säuregehalt verhindert die Entwicklung von Infusorien und ist hauptsächlich nur Penicillium crustaceum in solchen Kulturen zu fürchten. Die Art der Kultur ist die für Bakterien übliche, resp. mit den bei Hefe (s. d.) geschilderten Modifikationen.

Litteratur: Strasburger (Gr. bot. Prakt., 3. Aufl., 1897), Flügge (Mikroorganismen, 3. Aufl., Berlin 1896), Berlese (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 31, 1900), Harper (ebenda, Bd. 30, 1899).

Magnus, Berlin.

Piperidin siehe Alkaloide.

Piperin, $C_{17}H_{19}NO_3$, ein Alkaloid in den Früchten von Piper nigrum, sowie denjenigen von Piper longum. Prismen, die in kaltem Wasser fast unlöslich, in Alkohol und Aether leicht löslich sind.

Piperin wird von Madan als Medium zur Untersuchung empfohlen, und zwar in einem Gemisch von 4 Theilen Piperin und 1 Theil Kanadabalsam vom Index 1,657.

Litteratur: Madan (Journ. Roy. Micr. Soc., 1898). *Mosse*, Berlin.

Placenta. Zur Fixation des Placentargewebes spielt die Müller'sche Flüssigkeit auch in der neuesten Zeit noch eine ziemlich grosse Rolle (Heinricius, Peters, Paladino), daneben verwenden Strahl, van Beneden, Nolf, Vernhaut Pikrinschwefelsäure, Klebs Sublimat, van Beneden und Maximow Hermann'sche oder Flemming'sche Flüssigkeit, der letztere auch mit Vorliebe Podwyssotzky'sche oder Zenker'sche Lösung. Auch das Formol ist zur Fixation des Placentargewebes vielfach benutzt worden, so von Siegenbeck van Heukelom in 10%iger, von Paladino in 5%iger Lösung.

Will man bei kleinen Säugern die Entwicklung der Placenta untersuchen, so ist nach Maximow am besten nach Eröffnung der Bauchhöhle

das Mesometrium mit den in ihm verlaufenden Gefässen sorgfältig abzubinden, dann wird eine jede Eikammer von beiden Seiten abgebunden und in die körperwarme Fixationslösung, am besten eignet sich ZENKER'sche Flüssigkeit, eingelegt. Nachdem nach ungefähr 5 Minuten die Uteruswand etwas hart geworden ist, schneidet man aus dem antimesometralen Theil ein Stück heraus, um der Flüssigkeit auch Eingang ins Innere zu verschaffen. Um eine bessere Schnittfläche zu erreichen, wird später im Alkohol alles Ueberflüssige, besonders die Uterusmuskularis entfernt.

Zur Färbung der Schnitte empfiehlt STRAHL Safranin, MAXIMOW Hämatoxylin-Eosin oder Safranin-Lichtgrün, PALADINO eine Mischung von Biebricher Scharlach- und Alaunhämatoxylin.

Litteratur: HEINRICIUS (Arch. mikr. Anat., Bd. 33, 1889), PETERS (Ueber die Einbettung des menschlichen Eies. Leipzig und Wien 1899), PALADINO (Arch. ital. Biol., Bd. 31, 1899), STRAHL (Arch. Anat., 1889), VAN BENEDEN (Anat. Anz., Bd. 16, 1899), NOLF (Arch. Biol., Bd. 14, 1895), VERNHOUT (Anat. Hefte, Heft 14, 1894), KLEBS (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891), MAXIMOW (Arch. mikr. Anat., Bd. 51 u. 56, 1897 u 1900), SIEGENBECK VAN HEUKELOM (Arch. Anat., 1898).

Plasmaströmung pflanzlicher Objekte. Zur Demonstration der jedem lebenden Plasma zukommenden Fähigkeit der Eigenbewegung sind nur relativ wenig Objekte durch die Stärke ihrer Bewegung geeignet. Auch hier ist die rasche Bewegung oft keine normale, sondern der Ausdruck gesteigerter Zellthätigkeit als Reaktion auf irgend welche äusseren störenden Einflüsse. Bei den zellhautumrindeten Protoplasten der pflanzlichen Zellen unterscheidet man in der Hauptsache zwei Arten in der Bewegung, Cirkulation und Rotation. Bei der Cirkulation strömen einzelne Plasmapartien in verschiedener Richtung, oft dicht neben einander her. Meist durchsetzen vom plasmatischen Wandbeleg (Protoplasmaschlauch) ausgehend feine und feinste Plasmastränge den mit Zellsaft erfüllten Saftraum, besonders zahlreich in der Richtung zum Zellkern. Hauptsächlich auf ihnen ist die Bewegung an den an einander vorübergleitenden körnigen Plasmaeinschlüssen deutlich. Bei längerer Beobachtung sieht man auch oft einzelne Plasmastränge verschwinden, andere sich bilden und gleichzeitig den Kern mit fortgeführt werden. — Als bestes Demonstrationsobjekt dienen die Staubfädenhaare in den Blüten der im Freien in allen botanischen Gärten kultivirten Tradescantia virginica, am besten in Knospen kurz vor dem Aufblühen. Blütezeit Ende Mai—Juli. Oder auch der Blüten der häufig und leicht im Zimmer kultivirten, aber meist nur im Warmhaus blühenden Tradescantia zerebrina mit grüner und T. discolor mit rother Blattunterseite. Als recht guter Ersatz bei nicht blühenden Pflanzen dienen Randhaare junger Blattscheiden, besonders von Tr. virginica. Weiter sind empfehlenswerth die Haare jüngster Triebe von Kürbis, die mit dem Rasirmesser vorsichtig mit noch etwas anhaftender Blattepidermis abgetrennt werden müssen.

Bei der Rotation bewegt sich das Plasma ausschliesslich in einer Richtung in einem in sich selbst zurückkehrenden Strome, und zwar immer in der Längsrichtung der Zelle. Die beiden entgegengerichteten Ströme grenzen nicht unmittelbar aneinander, sondern sind durch einen Streifen ruhenden Plasmas, dem Interferenzstreifen, getrennt. Von den in Betracht kommenden Objekten haben den mächtigsten und schnellsten Strom die jüngsten Gliederzellen der Characäengattung Nitella, deren Stammknospe durch einen Längsschnitt in einzelne Theile zerlegt wird. (Vergl. Algen, Kultur der.) Als Ersatz können dienen die unberindeten jüngsten Haarzellen von Chara oder ihre Keimlinge. Die Strömung, die Zellkerne und Stachelkugeln mit sich führt, s. Characäen, findet hier unterhalb der in Ruhe befindlichen reihenweise angeordneten Chlorophyllkörner statt, zwischen denen

sich der Rand des Interferenzstreifens durch eine spiralig gedrehte chlorophyllfreie Linie markirt, entsprechend der auch bei anderen Objekten zu beobachtenden etwas schiefen Stromrichtung. In Zellen, die schon etwas gelitten haben, werden auch oft die Chlorophyllkörner mitgerissen, die dann eine eigenthümliche, sehr schnelle Rotation zeigen. Schöne Objekte sind auch die jungen steifen Wurzelhaare von Wasserpflanzen, vom Froschbiss, Hydrocharis morsus ranae (leicht im Aquarium kultivirbar) und der amerikanischen Hydrocharidäe Trianaea bogotensis, stets in botanischen Gärten. Es muss hier zur Beobachtung die ganze Wurzelspitze im Wasser unter das Deckglas gebracht werden. In sehr jungen Haaren findet noch Cirkulationsströmung statt, die sich erst beim Aelterwerden in Rotation verwandelt, so dass alle Uebergänge vorhanden sind. Erst durch den Wundreiz bei Verletzung und nach einiger Zeit (bis 5 Minuten) zu rascher Rotationsströmung, die auch alle Chlorophyllkörner mitreisst, werden angeregt die grossen Mesophyllzellen der Blätter von Valisneria spiralis und die Blattzellen von Elodea canadensis Wasserpest, beide leicht im Zimmeraquarium kultivirbar. Während die letzteren so durchsichtig sind, dass sie direkt nach Abtrennung vom Spross beobachtet werden können, erfordern erstere eine geringe Präparation. Ein Flächenschnitt wird hergestellt mit dem Rasirmesser, nachdem man das lange Blatt quer über dem Zeigefinger straff gespannt hat; dann wird er mit der Blattepidermis nach unten auf den Objektträger gebracht.

Die Intensität der Protoplasmaströmung ist sehr abhängig von äusseren Bedingungen, so tritt sie in kälterer Jahreszeit öfter erst nach längerem Aufenthalt im warmen Zimmer ein; ebenso wie eine »Kältestarre« giebt es vor dem Absterben der Zelle auch eine »Wärmestarre«. Das genaue Studium über die Beeinflussung durch Wärme (Schäffer), Licht, Anwesenheit von Sauerstoff (Ritter) und anderer Gase (Samassa), Elektricität (Hörmann) etc. ist von verschiedener Seite in Angriff genommen und dient meist Nitella als Versuchsobjekt. Da die Plasmaströmung ein gutes Kriterium für den Lebenszustand der Zellen bildet, dient sie vielfach (zumal Haare von Tradescantia) als geeignetes Objekt zum Studium der Absterbeerscheinungen bei schädigenden Einflüssen zumal von Giften (Bokorny, Klemm). Es können hierbei ähnliche Erscheinungen auftreten wie bei den »Aggregationen« in den Digestionshaaren von Drosera. Nach Fütterung mit Fleisch und anderen Stoffen findet in den Zellen der Tentakel lebhafte Cirkulationsströmung statt, durch die die ursprünglich einzige grosse Mittelvakuole allmählich in viele kleine zerspalten wird. Nach dem Aufhören der Reizung geht die Erscheinung wieder zurück (De Vries). Ueber die Bewegungen der Chlorophyllkörner durch Licht vergl. Chromatophoren.

Litteratur: Strasburger (Gr. bot. Prakt., 3. Aufl., 1897), Hauptfleisch (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 24, 1892), Schäffer (Flora, Bd. 85, 1898), Ritter (Flora, Bd. 86, 1899), Samassa (Verh. Nat. med. Ver. Heidelberg, N. F., Bd. 6, 1898), Hörmann (Studien über die Protoplasmaströmung bei d. Characeen, Jena 1898), De Vries (Bot. Zeit., 1886), Bokorny (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 20, 1889), Klemm (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 27, 1895).

Schöne Protoplasmaströmung lässt sich bei nicht zellhautumrindeten Zellen, besonders bei vielen Protozoen beobachten. Sie äussert sich im einfachsten Falle in einer gegenseitigen Verschiebung der Plasmapartikelchen. Mit ihr kann eine Formveränderung verbunden sein durch Ausstreckung amöboider Fortsätze, die, falls sie nach einer Richtung stattfinden, zur Ortsveränderung führt. In diesem Falle ist bereits eine regelmässigere Strömung zu beobachten, so zwar, dass in dem vorwärtsfliessenden Plasmaarm, dem Lobopodium, dem körnerfreien Ektoplasma vom Hinterende aus das körnerreiche Endoplasma folgt, in seiner Axe nach vorne fortströmt, am Vorderende des Lobopodiums fontänenartig nach der Seite umbiegt und nach hinten wieder abfliesst (Rhumbler). Zur Demonstration ist jede lobose Amöbe geeignet. Material beschafft man sich durch ein paar Tage Stehenlassen von feuchten Fucus- und Agarstengeln. Meist ist es die Amoeba limax. Oder durch Aufstellen von Schlammboden eines Teiches in Kulturgläsern, wo meist in 8—14 Tagen die kleinen weissen Pünktchen der grossen Pelomyxa an der Wand heraufkriechen. Die Lobopodien

können ebenso wenig wie die Filipodien, das sind sehr lange und sehr spitze Lobopodien der stets mit Schale versehenen filosen Amöben verschmelzen. Dies ist der Fall bei den feinen Pseudopodien der Rhizopoden, die ein feinstes Netzwerk bilden, auf dem ganz entsprechend der Cirkulation in behäuteten Zellen eine lebhafte Körnerströmung in allen Richtungen stattfindet. Als Demonstrationsobjekt sind noch am leichtesten zu beschaffen die beschalten Foraminiferen des Meeres, lebend z. B. aus der Station von Rovigno stets erhältlich. Noch typischer ist die Körnerströmung bei den Heliozoen, wo auf den Strahlen stets lebhafte Strömung stattfindet. Heliozoum oder auch das schon mit blossem Auge erkennbare Aktinosphärium sind meist nach kurzem Suchen auf dem Boden von mit Teichschlamm und Wasser beschickten Kulturgefässen zu finden. Ueber die Bewegung der Plasmodien vergleiche Myxomyceten.

Litteratur: Rhumbler (Arch. Entwickl., Bd. 7, 1889) und A. Lang (Protozoen, Jena 1901). *Magnus,* Berlin.

Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen. Die pflanzlichen Zellen stehen an den verdünnten Stellen (Tüpfel, Poren) sowohl ihrer Membranen als auch oft an nicht verdünnten Stellen durch sie hindurch mit Plasmafortsätzen (Plasmodesmen Strasburger's) mit einander in unmittelbarer Verbindung. Unmittelbar im Leben sichtbar sind dieselben bei den Algenkolonien Volvox'* innerhalb der Gallerte (geeignetes Demonstrationsobjekt). Bei höheren Pflanzen gelingt der unmittelbare Nachweis im Endosperm einiger Palmensamen (zumal bei Phytelephas macrocarpa, Steinnüsse, vegetabilisches Elfenbein). Sehr dünne Schnitte längere Zeit in stark verdünnter Lösung von Methylviolett oder Safranin lassen die Plasmaverbindungen als dünne, homogene Plasmastränge scharf hervortreten (Kohl) Auch hier werden nur die in Bündeln zusammen liegenden (aggregirten) Tüpfel durchsetzenden sichtbar, die zerstreut liegenden Plasmastränge (solitäre) ebenso wie die Plasmastränge aller übrigen Pflanzen erst auf Quellungspräparaten. Geeignete Objekte sind Moose (Mnium affine, Selaginella martense), Epidermis der Blätter oder Rindenparenchym von Viscum album (Mispel), sekundäre Rinde (Phanerogamen), Siebröhren von Wistaria (Glycinie). Ausser etwa den Moosen müssen die Objekte vorher fixirt werden.

a) Frische dünne Schnitte gelangen in 1%ige Osmiumsäure, werden abgespült und für 20—30 Minuten in Jodjodkalium (0,2% Jod + 1,64% Jodkalium) gebracht.

b) Zweistündige Fixirung in Nemecs Pikrinschwefelsäure (s. Fibrillen in Pflanzenzellen), besonders zur Entwicklungsgeschichte der Plasmodesmen geeignet.

c) Unter Umständen Jodjodkalium allein, z. B. Endosperm von Tamus. — Es sind immer mehrere Fixirungen anzuwenden, da die Bilder dann oft sehr verschieden (dick, dünn, homogen, körnig, stäbchenartig) ausfallen. Nicht mit Erfolg verwendbar sind Chromosmiumessigsäure, Carnoy, Chromessigsäure. — Die fixirten Objekte werden am zweckmässigsten direkt in die quellende Flüssigkeit 2—50%ige Schwefelsäure (75% für Moose) gebracht und verbleiben dort von mindestens ½ Stunde bis einen ganzen Tag (so bei Moosblättern). Gefärbt werden die Schnitte 5 Minuten oder länger in 25% mit Jod und 1 Tropfen Meyer'scher Pyoktaninlösung (Pyoct. coeruleum von C. Merck ist ein sehr reines Methylviolett), in Wasser im Verhältniss 1 : 30 versetzter Schwefelsäure (Strasburger). Die Plasmaverbindungen entstehen erst nachträglich in den angelegten Zellwänden, regeneriren sich aber nach ihrer Ablösung durch Plasmolyse (s. diese) nicht wieder.

Litteratur: Kohl (Ber. deutsch. bot. Ges., 1900), Strasburger (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 36, 1901), vergl. auch Hill (Ann. Bot., 15, 1901), Kienitz-Gerloff (Berl. bot. Ges., 1902).

Magnus, Berlin.

* Im Sommer ziemlich in jedem Teich als stecknadelkopfgrosse, sich lebhaft bewegende (rollende) Kugeln zu erlangen.

Plasmazellen. Der Name Plasmazellen wurde 1875 zuerst von Waldeyer für eine besondere Gruppe von Zellen des Bindegewebes in Vorschlag gebracht, die sich im Gegensatz zu den von Virchow, Cohnheim und Ranvier charakterisirten protoplasmaarmen, platten Bindegewebszellen durch besonderen Protoplasmareichthum auszeichneten. Diese Waldeyer'sche Gruppe umfasste — wie sich durch später (1892) von Waldeyer und mir ausgeführte (nicht publicirte) Untersuchungen herausstellte — der Hauptsache nach Ehrlich-sche Mastzellen, daneben aber noch andere Zellenarten, wie die der Zwischensubstanz des Hodens, die der Steiss- und Karotidendrüsen, der Nebennieren, des Corpus luteum und der Decidua, die von den Mastzellen verschieden waren und deren zum Theil völlig disparate Natur heutzutage erkannt ist. Inzwischen hatte ich bei vielen pathologischen Processen der Haut mittelst einer besonderen Färbemethode Zellen entdeckt, welche durch ihren Protoplasmareichthum ausgezeichnet waren, und für dieselben in Anlehnung an die Waldeyer'sche Definition den Namen Plasmazellen vorgeschlagen. Die Berechtigung dieser Benennung wurde von Waldeyer 1895 anerkannt: »Die Unna'schen Plamazellen entsprechen aber sehr wohl der Definition, welche ich damals (1875) von der Plasmazelle gab, der Erkenntniss, welcher ich Ausdruck geben wollte, dass wir ausser den protoplasmaarmen Zellen im Bindegewebe noch protoplasmareiche, in anderen Formen auftretende zu unterscheiden und zu beachten hätten. Die Bezeichnung, welche Unna gab, muss ich daher als durchaus berechtigt anerkennen.« (Waldeyer.)

Da ausserdem für das Hauptkontingent der Waldeyer'schen Gruppe sich der Ehrlich'sche Name: Mastzellen inzwischen eingebürgert hatte, gab Waldeyer (1895) seinen älteren Begriff: Plasmazellen auf und eventuell für eine neue Definition frei.

Diese neue Definition gab ich auf Grund meiner ausgedehnten, in der Histopathologie der Haut (Hirschwald 1894) niedergelegten Erfahrungen 1892 folgendermassen: »Die Plasmazellen* sind im grossen und ganzen als einseitig hypertrophische Bindegewebszellen zu definiren, in denen der körnige Bestandtheil des Protoplasmas maximal vermehrt ist. Mit dieser Vermehrung geht eine Abrundung der Form Hand in Hand, die Ausläufer des Spongioplasmas werden eingezogen, es entstehen rundliche, ovale oder bei Einschluss in kollagene Spalten oder komprimirte Herde: kubische Gestalten. Der Kern ist gewöhnlich schön oval, liegt häufig an einem Ende der Zelle, erscheint bei der »Protoplasmafärbung« als hellerer Fleck in der dunkelblauen Zelle, bei Kernfärbung aber oder ungenügender Protoplasmafärbung zeigt er ein grobbalkiges Chromatinnetz mit einer Reihe sehr grosser, stark tingibler Chromatinkörner oder bei stärkerer Entfärbung nur die letzteren. Das Protoplasma ist bei manchen durchweg blauschwarz gefärbt, an anderen fällt aber die blaue Farbe stellenweise aus, man sieht das leere, violett gefärbte Spongioplasmanetz der Zellen und bemerkt, dass die Reste der blauen Farbe an feinen Punkten, an Körnchen haften. Mitosen finden sich in den Plasmazellen sehr selten, dagegen häufig und in den grösseren fast immer eine Reihe sehr gleichartiger, ovaler, zuweilen facettirter Kerne; ich halte sie für amitotisch entstanden.

Die Plasmazellen liegen in rundlichen oder eckigen Hohlräumen des kollagenen Gewebes und werden nicht durch Fortsätze mit einander verbunden (ausser etwa im Momente der Theilung). Sie haben keine Beziehung zur Genese des fibrillären Gewebes und stellen sich damit in Gegensatz zu den grossen Spindel- und Spinnenzellen des Bindegewebes, welche nur wenig körniges Protoplasma um den Kern aufweisen, dafür aber eine

* Unna, Ueber die Bedeutung der Plamazellen für die Genese der Geschwülste der Haut, der Granulome und anderer Hautkrankheiten. (Berl. klin. Wochenschr., 1892, Nr. 49.)

Hypertrophie des Spongioplasmas und der Zellenausläufer zeigen. Nur diese Bindegewebszellen zeigen eine Beziehung zur Entstehung der kollagenen Zwischensubstanz.

Die so definirte Plasmazelle ist nun ein ebenso häufiger wie wichtiger Bestandtheil der zelligen Infiltration bei einer grossen Anzahl von Hautkrankheiten, und ich glaube nicht fehl zu gehen, auch der Krankheiten der übrigen Gewebe. Sie verdienen unsere Aufmerksamkeit in noch höherem Grade als die Mastzellen, da sie das Muttergewebe einer Reihe von wichtigen Degenerationsprodukten darstellen, mit einem Worte, in der Geschichte vieler (Haut-)Krankheiten histologisch eine grosse Rolle spielen.*

Zur Erläuterung dieser Definition muss ich zunächst daran erinnern, dass nach meiner Auffassung im Protoplasma aller Bindegewebs- und Epithelzellen, wenn man von allen Einschlüssen (Granula Ehrlich's und Altmann's, Fett, Pigment etc.) absieht, noch zwei wichtige, morphologisch und tinktoriell verschiedene Substanzen zu unterscheiden sind: »das wabige Spongioplasma und das amorphkörnige Granoplasma«, welche in pathologisch vergrösserten Zellen, jede für sich, in vermehrtem Massstabe ausgebildet sein können. Die Plasmazellen mit ihrem Uebermass an Granoplasma bilden nur das eine Extrem hypertrophischer Bindegewebszellen, das andere wird von den an grosswabigem Spongioplasma reichen, grossen Fibroblasten und Plattenzellen gebildet. Wie die Plasmazellen den wichtigsten cellulären Bestandtheil der Granulome, so bilden die Fibroblasten denjenigen der fibrösen Tumoren. Zwischen beiden Extremen giebt es alle nur erdenklichen Uebergänge durch Zellen, welche neben den Fortsätzen der Fibroblasten mehr oder minder reichlich Granoplasma angehäuft enthalten. Es hat hiernach keinen Sinn, irgend welche Uebergangszellen, auch wenn sie viel Granoplasma enthalten, als Typus der Plasmazellen hinzustellen, ebenso wenig wie diejenigen Zellen, welche schon wieder einen Theil ihres Granoplasmas verloren haben, während die übrigen Eigenschaften der Plasmazellen ihnen erhalten geblieben sind.** Dieser Verlust an Granoplasma, welcher an vielen Zellen der Plasmome nahezu regulär vorkommt, findet meistens in der Art statt, dass nur einzelne granoplasmahaltige Waben granoplasmafrei werden; gerade an diesen partiell atrophischen Plasmazellen tritt das wabige Gerüst des Spongioplasmas, welches den Plasmazellen so wenig abgeht wie den Zellen überhaupt, am deutlichsten hervor.

Mit der Bezeichnung »amorph-körnig« für die wesentliche Struktur des Granoplasmas hoffe ich definitiv das Missverständniss gewisser jüngerer Autoren zu beseitigen, welche das »körnige« Protoplasma immer in Vergleich zu ziehen suchen mit den Granula Ehrlich's, obwohl ich seit den ersten Publikationen die Plasmazellen so scharf wie möglich von den Mastzellen Ehrlich's trennte; viel zutreffender ist es, das Granoplasma als ein »körniges Protoplasma« im Sinne alter und neuer Autoren zu bezeichnen da es im Gegensatz zu allen Einschlüssen selbst ein Theil des Protoplasmas ist.

Einer weiteren Erläuterung bedarf das Wort »Protoplasmafärbung«. Diese trat seinerzeit den bis dahin gebräuchlichen Kernfärbungen gegenüber, gleichzeitig als Gegensatz und Ergänzung, so dass eine extreme »Protoplasmafärbung«, wie sie z. B. eine starke Entfärbung des mit polychromer Methylenblaulösung gefärbten Präparates ergiebt***, neben stark gefärbtem

* Ich setze den Wortlaut der ersten Definition meiner Plasmazellen hierher, da sie heute, nach 10 Jahren, noch Wort für Wort zu Recht besteht und zugleich aus ihr hervorgeht, dass alle später von Herrn v. Marschalkó erfundenen Kriterien der Plasmazellen bereits von mir von Anfang an richtig gewürdigt wurden.

** Solchergestalt sind die von v. Marschalkó unzweckmässiger Weise als Haupttypus von Plasmazellen aufgestellten Zellen mit centralem, granoplasmafreiem Hofe.

*** Siehe Histopathologie, Tafel Fig. 1.

Granoplasma die Kerne bis auf das Kernkörperchen vollständig entfärbt zeigt. Nach dem damaligen Stande der Technik war eine Protoplasmafärbung in der That unvollkommen, wenn die Kerne sich stark gefärbt zeigten. Später lehrte ich durch eine neue Technik (polychr. Methylenblaulösung, Entfärbung in nicht angesäuerter Orceïnlösung und andere Methoden) Granoplasma und Kernchromatin gleichzeitig maximal gefärbt darzustellen.*

Nicht blos die Theilung der Plasmazellen, welche nachweislich selten durch Mitose, meistens wohl amitotisch vor sich geht, liefert eine Brut kleiner Plasmazellen, welche durch einen relativ grossen, central liegenden Kern und einen schmalen, stark tingibeln, sonst aber normal geformten Protoplasmasaum charakterisirt sind, sondern auch der Abbau derselben.

Dieser besteht in der Auswaschung von Granoplasma und der Abbröckelung ganzer granoplasmahaltiger Waben, so dass diese Art kleiner Plasmazellen einen ganz unregelmässigen, zackigen Protoplasmasaum aufweist. Beide Arten habe ich, da sie von Plasmazellen abstammen, als Plasmatochterzellen bezeichnet, schlage aber jetzt vor, der Genauigkeit halber, als »Plasmatochterzellen« nur die durch Theilung entstandenen, kleinen Plasmazellen zu bezeichnen, dagegen die durch Abbröcklung entstandenen kleinen Plasmazellen als »atrophische Plasmazellen«. Besonders die letztere Form — der angenagten Plasmazellen — bildet einen regelmässigen Bestand der meisten Granulome und trifft zusammen mit dem Befund feiner und grober Protoplasmabröckel in den umgebenden Lymphspalten. Die Granoplasmareste bei diesen abgebauten Plasmazellen sind anscheinend allen Autoren entgangen, und die scheinbar freien Kerne derselben liessen daher eine Deutung als Leukocytenkerne zu; vieles, was als »kleinzellige Infiltration« beschrieben wurde, gehört hierher.

Sehr interessante Modifikationen erleiden die Plasmazellen unter dem Einfluss des Oedems und der hyalinen Degeneration. Bei beiden Processen verändert sich nur das Granoplasma, während das Wabengerüst des Spongioplasmas erhalten bleibt. Durch ersteres entstehen die grossblasigen »Schaumzellen«, durch letztere die hyalinen Zellen, welche in Haufen von hyalinen Kugeln zerfallen.

Was die Herkunft der Plasmazellen betrifft, so ergiebt die mikroskopische Untersuchung bisher nur die histiogene Abstammung als die einzig mögliche Auffassung, da an geeigneten Präparaten (Ulcus molle, Initialsklerose, Rhinosklerom, Rhinophym, Akne) alle wünschenswerthen Uebergänge zwischen Plasmazellen und anderen Formen von Bindegewebszellen auftreten. Die von einer Reihe neuerer Autoren vorgeschlagene hämatogene Auffassung (sogenannte Lymphocytentheorie) entbehrt noch jeder faktischen mikroskopischen Begründung, da eine Auswanderung von Plasmazellen aus dem Blute in die Gewebe der Plasmome — analog der leicht nachweisbaren Emigration polynukleärer Leukocyten, z. B. im Granulationsgewebe — bisher nicht geglückt ist.

Das Vorkommen der Plasmazellen als pathologische Abkömmlinge der Bindegewebszellen ist nicht an die Haut gebunden. Die meisten chronischen Entzündungen und Tumoren der übrigen Organe liefern sie unter denselben Umständen und zum Theil in besonders mächtiger Ausbildung, z. B. die Schleimhäute.

Es ist daher selbstverständlich, dass sie auch in den Lymphdrüsen, in der Milz und im Knochenmark unter pathologischen Verhältnissen vorkommen. Pappenheim glaubt neuerdings nachweisen zu können, dass die in diesen Organen unter normalen Verhältnissen als grosse und kleine Lympho-

* Histopathologie, Tafel Fig. 2.

cyten bekannten Zellen den grossen und kleinen Plasmazellen des Bindegewebes morphologisch und tinktoriell gleichzusetzen seien. Wenn diese Auffassung sich bewahrheitet, so sind die Lymphocyten jener Organe — Plasmazellen, welche in ihnen schon normalerweise, nicht erst durch pathologische Reize entstehen. Es spricht für diese Auffassung eine bemerkenswerthe Analogie, welche darin besteht, dass, wie aus den Lymphdrüsen die Lymphocyten ins Blut übertreten, aus den Plasmomen der Haut ganze Gruppen von Plasmazellen unter Einschmelzung des kollagenen Gewebes in die Lymphwege und weiter wohl in das Blut gelangen können.

Da die Definition der Plasmazellen als in extremer Weise mit Granoplasma erfüllter Bindegewebszellen völlig auf der des Granoplasmas beruht, so hängt die Auffassung dieser Zellen in letzter Instanz von der mehr oder minder guten Darstellung des Granoplasmas ab; diese ist aber bisher eine rein tinktorielle. Daher ist das erste und unerlässliche Erforderniss für jede wissenschaftliche Untersuchung über Plasmazellen die Beherrschung der Granoplasmafärbung. Wer an das Studium derselben herantritt, ohne sich vorher klar gemacht zu haben, dass das Granoplasma (ein Paranukleoproteïd) zu allen Metallsalzen und gerbenden Säuren eine starke chemische Affinität besitzt, mithin durch fast alle gebräuchlichen Fixationsmittel hochgradig verändert wird und weder in seiner Struktur noch in seiner tinktoriellen Qualität als solches erhalten bleibt, der wird bei Ausserachtlassung der folgenden Kautelen zu histologischen Bildern gelangen, welche zu ganz unnatürlichen Erklärungsversuchen führen. Das vollkommene Uebersehen der Plasmazellen in den letzten Jahrzehnten ist ebensowohl auf die Unkenntniss dieser Kautelen zurückzuführen, wie die Unklarheit über ihre Herkunft (sog. Lymphocytentheorie in den Plasmazellen von Jadassohn, Neisser und v. Marschalkó) und über ihre weiteren Schicksale in neuerer Zeit auf eine mangelhafte Beherrschung derselben. Um Uebergänge zu sehen, muss man eben alles Granoplasma gut färben können.

Die dem lebenden oder todten Gewebe entnommenen Theile müssen in einem absolut reinen Glasgefässe direkt und möglichst rasch in absolutem Alkohol fixirt und gehärtet werden, am besten so, dass man sie in kleinen Stücken auf einen Wattebausch legt, der mit absolutem Alkohol getränkt ist. Nach zweimal 24 Stunden kommen die Stücke in eine stark verdünnte Celloidinlösung und nach 24—48 Stunden (je nach der Dicke der Stücke kürzer oder länger) in die gebräuchliche, dicke Celloidinlösung, wo sie längere Zeit, mindestens aber 24 Stunden in der Wärme verweilen. Die zum Verschluss der Präparatengläser gebrauchten frischen Korke, ebenso wie die zum Aufkleben beim Schneiden dienenden frischen Holz- oder Korkstücke müssen stets vor dem Gebrauch einige Stunden in 2%iger Sodalösung zur Extraktion und Neutralisirung der in ihnen enthaltenen Gerbsäure ausgekocht werden. Das Aufkleben der Stücke auf die Klötze geschieht so, dass man zuerst einen Tropfen dicker Celloidinlösung auf letztere bringt, die Stücke richtig aufsetzt und sofort mit der Celloidinlösung reichlich bedeckt. Nach $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde sind dieselben lufttrocken und kommen auf mindestens 1 Stunde in verdünnten Alkohol zum Ausziehen des Aethers, wo sie aber auch tagelang verweilen können. In Bezug auf diesen Alkohol gilt ebenfalls, dass derselbe absolut rein sein muss und nicht vorher in Berührung mit Gerbstoffen oder Metallsalzen gewesen sein darf. Die Schnitte erhalten eine Dicke von $7^1/_2$—$12^1/_2$ μ, werden mittelst Pinsels vom Messer abgehoben und später am besten mittelst Platinnadeln weitergebracht. Zum Feuchthalten auf dem Messer dient absolut reiner verdünnter Alkohol. Eine Entfernung des Celloidins aus den Schnitten vor der Granoplasmafärbung ist im allgemeinen nicht nothwendig und für über-

mässig zellenreiche Gewebe nicht rathsam. Die Schnitte kommen aus dem verdünnten Alkohol in Wasser und dann direkt in die Farblösungen.

A. Färbung der grossen Plasmazellen und des Granoplasmas überhaupt.

I. pol. Methylenblau-n. Orcein-Methode.

1. Polychrome Methylenblaulösung (Grübler) 10 Minuten.

2. In Wasser gut abspülen.

3. Schnitt auf dem Spatel mit Fliesspapier vom Wasserüberschuss befreien.

4. 1%ige Orceïnlösung (Grübler) ohne Säurezusatz 15 Minuten.

NB. Nach dieser Zeit muss alles Kollagen eine schön braune Farbe angenommen haben, ohne dass die Granoplasmafärbung gelitten hat; andernfalls ist das Orceïn nicht gut und würde bei längerer Färbungsdauer das Granoplasma entfärben.

5. Alkohol absolutus bis 2 Minuten, solange Methylenblau noch reichlich abgegeben wird.

6. Bergamottöl, Balsam.

II. Pol. Methylenblau-Glycerinäther-Methode mit langer Entfärbung.

1. Polychrome Methylenblaulösung (Grübler) 2 Minuten.

2. In Wasser gut abspülen.

3. Glycerinäther-Mischung (Grübler) 1 Theil auf 4 Theile Wasser 1 bis 2 Minuten.

NB. Je dicker der Schnitt ist und je mehr Kollagen derselbe enthält, umso länger kann er in der Glycerinäther-Mischung verweilen.

4. In Wasser sehr gut (etwa 2—5 Minuten) abspülen.

5. Alk. abs., Bergamottöl, Balsam.

III. Karbol + Pyronin + Methylgrün-Methode

(von Unna modificirte Pappenheim'sche Methode).

1. Karbol + Pyronin + Methylgrün-Mischung (Grübler) 5—10 (!) Minuten warm, bei 30—40° im Reagirgläschen, am besten im Wasserbade.

2. Schnitt möglichst rasch durch Eintauchen des Reagirgläschens in kaltes Wasser abkühlen.

3. Schnitt aus der Farbflotte mit Platindraht herausnehmen und in Wasser abspülen.

4. Alk. absol., Bergamottöl, Balsam.

Bei diesen drei Färbungen muss das Granoplasma durchweg dunkel gefärbt und deutlich amorph körnig, wie ein pulveriger Niederschlag aussehen; hat derselbe ein mattes und diffuses Aussehen, so ist die Färbung missglückt. Diese Färbungen sind aber nur dort zu verwerthen, wo sich das Granoplasma in relativ groben Mengen vorfindet. Wo dasselbe atrophisch, in Auflösung begriffen, auf dem Transport in den Lymphwegen befindlich ist und wo das freigelegte Spongioplasma und dessen Reste deutlich mitgefärbt werden sollen, genügen obige Methoden nicht. In diesen Fällen, also z. B. speciell bei der Untersuchung der kleinen Plasmatochterzellen und atrophischen Plasmazellen, treten die folgenden Methoden dafür ein.

B. Färbung der kleinen Plasmazellen (Plasmatochterzellen und atrophische Plasmazellen), der Granoplasmareste und des Spongioplasmas überhaupt.

I. Pol. Methylenblau-Glycerinäther-Methode mit kurzer Entfärbung.

1. Polychrome Methylenblaulösung (Grübler) 2 Minuten.
2. In Wasser gut abspülen.
3. Glycerinäthermischung (Grübler) 1 Theil auf 4 Theile Wasser ½ Minute.
4. In Wasser sehr gut, ca. 2 Minuten, abspülen.
5. Alkohol absol., Bergamottöl, Balsam.

II. Pol. Methylenblau-Anilin + Alaun-Methode.

NB. Bei dieser Methode muss — wie bei allen Anilinentfärbungsmethoden — ausnahmsweise das Celloidin vor der Färbung entfernt werden; die Methode passt also nicht für sehr brüchige Schnitte.

1. Entfernung des Celloidins in Alkohol + Aether, Abspülung in Alkohol absol. und zuletzt in Wasser.
2. Polychrome Methylenblaulösung (Grübler) 5 Minuten.
3. In Wasser gut abspülen.
4. Auf dem Spatel mit Fliesspapier gut abtrocknen.
5. Durch rasche Senkung des Spatels den Schnitt in die Mitte einer Alkohol-Xylolmischung (2 Theile Alkohol auf 3 Theile Xylol) eintauchen, so dass er rasch fortgespült wird und ihn bis zur Entwässerung (1 Minute) darin lassen.
6. In Xylol vom Alkohol befreien, ca. 1 Minute.
7. In der Anilin + Alaunmischung entfärben. 5—10 (!) Minuten.

NB. Die Mischung wird dargestellt, indem in ein Glas mit Anilinöl gepulverter Alaun 1—2 Finger breit hoch geschichtet wird. Das überstehende Anilinöl nimmt langsam Anilinsulfat auf und entfärbt umso stärker, je älter die Mischung ist. Letztere wird durch Zugabe von frischem Anilinöl zu dem alten Alaun erneuert.

NB. Eine Modifikation dieser ausgezeichnet milden Entfärbung bildet diejenige in Anilin + Alaun + Orange. Hierzu giebt man auf einen Trichter mit einem Wattepfropf eine Messerspitze Orange und filtrirt die Anilin + Alaun-Mischung hindurch, welche sich dabei mit Orange sättigt.

8. Xylol, Balsam.

III. Pol. Methylenblau — Karbol + Pyronin + Methylgrün-Methode.

1. Pol. Methylenblaulösung (Grübler) 2 Minuten.
2. In Wasser abspülen.
3. Karbol + Pyronin + Methylgrün-Mischung (Grübler) 20 Minuten, warm, im Reagirgläschen.
4. Rasch abkühlen (siehe Methode A, 3).
5. Wasser, Alkohol absol., Bergamottöl, Balsam. *Unna*, Hamburg.

Plasmodiophora siehe Myxomyceten.

Plasmolyse pflanzlicher Zellen. Die pflanzlichen Protoplasten liegen mit ihrem sehr dünnem Protoplasmaschlauch, der den Zellsaft umschliesst, der sie einhüllenden Zellhaut fest an unter einem Druck (Turgor), der oft 3, ja bis 20 Atmosphären beträgt und eine nicht unbeträchtliche Dehnung der Zellhaut hervorruft. Die Möglichkeit, durch wasserentziehende Mittel den Zellsaft zu verringern, so den Druck aufzuheben und die Los-

lösung des Protoplasten von der Wand herbeizuführen, ist für viele botanische mikroskopische Untersuchungen von grosser Bedeutung. Als wasserentziehende Mittel kommen natürlich nur für den Protoplasten ungiftige Mittel in Betracht. Es sind dies neutrale Salze, wie zumal Kalisalpeter oder auch Kochsalz, oder organische Verbindungen, wie Rohrzucker oder Glycerin. Durch Zusatz eines indifferenten Farbstoffes, etwa Eosins, kann öfters ein klareres Bild erzielt werden. Als gewöhnlich ausreichende und unschädliche Koncentration wäre 4⁰/₀ige Salpeterlösung oder 15⁰/₀ige Rohrzuckerlösung zu empfehlen. Durch Wasserzusatz kann, wenn der Protoplast unversehrt, die Plasmolyse wieder rückgängig gemacht werden. Flüssigkeitsdurchtritt durch den Protoplasten, Aufhören des osmotischen Druckes und damit plasmolytische Erscheinungen können auch durch andere meist schädigende Einwirkungen hervorgerufen werden, z. B. Elektricität, sowie jedes langsame Absterben, das mit starken Kontraktionen des Plasmakörpers verbunden ist (Klemm). Zur Demonstration kommen möglichst resistente Objekte in Betracht, z. B. Spirogyrazellen, andererseits Zellen welche durch ihren natürlich gefärbten Zellsaft deutlich die Loslösung des Protoplasmaschlauches von der Zellwand erkennen lassen, wie die violetten Staubfädenhaare von Tradescantia virginica (vergl. Eiweissstoffe der Pflanzenzelle, Schluss) oder die rothvioletten Epidermiszellen der Blattunterseite von Tradescantia discolor, die durch leichte Sichtbarkeit der ersten Anfänge der Plasmolyse ebenso wie durch ihre Resistenz zu Untersuchungen über den osmotischen Druck sehr geeignet sind, ähnlich wie auch die Blattstiele von Curcuma rubricaulis und die Blattschuppen von Begonia manicata (De Vries, Israel). — Die Plasmolyse wird angewandt ausser zur Bestimmung des osmotischen Druckes zur Freipräparirung des Protoplasten aus der Zellhaut, indem z. B. das plasmolysirte Gewebe mit Nadeln zerrissen wird, wobei immer einige unversehrte Protoplasten heraustreten (Klerker), zur Loslösung einzelner Stücke vom Protoplasten, die häufig bei schneller Plasmolyse eintritt, wobei dann das Verhalten kernhaltiger und kernfreier Stücke in Bezug auf Neubildung, Assimilation u. s. w. untersucht werden kann (Klebs, Townsend), zur Demonstration der gewissen Selbständigkeit der inneren Vakuolenhaut, Tonoplast, nach Abtödtung des Plasmas (anormale Plasmolyse), z. B. bei Spirogyra mit durch Eosin gefärbte 10⁰/₀ige Kalisalpeterlösung, die gleichzeitig den getödteten Protoplasten rothfärbt (De Vries) — und zum Studium ähnlicher Erscheinungen. — Die Fixirung der Plasmolyse, die zum Festhalten gewisser schnell vorübergehender Stadien sehr zweckdienlich wäre, ist nur schwer zu erreichen, da beim Fixiren oft ein Ausdehnen und Platzen oder andererseits eine starke Zunahme der Plasmolyse einzutreten pflegt, wie überhaupt pflanzliche Objekte bei der Fixirung sehr oft etwas plasmolysirt werden. Am besten hat sich noch bei plasmolysirten Wurzelspitzen koncentrirte wässerige Pikrinsäure und 3⁰/₀ige kochende Essigsäure bewährt (Zimmermann).

Litteratur: Pfeffer (Pflanzenph., 2. Aufl., Bd. 1), De Vries (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 16, 1886), Klebs (Arb. Tüb. Inst., Bd. 2, 1888), Townsend (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 30, 1897), Klemm (Jahrb. wiss. Bot., 28, 1895), Zimmermann (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892).

Magnus, Berlin.

Plastische Rekonstruktion. Mit der Einführung des Mikrotoms und besonders mit der Ausbildung der Schnittserientechnik hat eine neue Phase in der mikroskopischen Anatomie und Entwicklungsgeschichte begonnen; eine Fülle von Entdeckungen verdanken wir dieser Methodik. Indes konnte bei ihrer so ausgiebigen Verwendung die Gefahr nicht ausbleiben, dass man im steten Betrachten der Schnitte das körperliche Bild des untersuchten Gegenstandes aus den Augen verlor. Die plastischen Formen des Objekts, die ältere Forscher bei ihren Lupenbeobachtungen stets

vor sich gehabt hatten, wurden mit der Verfeinerung der Technik unkenntlich, und wollte man sich nicht darauf beschränken, Beschreibungen von einzelnen Schnitten zu geben, so musste man auf dem Wege der Rekonstruktion aus der Serie eine körperliche Anschauung des Objektes zu bekommen suchen.

Dass die Gewinnung eines solchen Bildes aus den Schnitten »im Kopf« ungemein schwer ist und oft genug zu falschen Ergebnissen geführt hat, ist bekannt und hat wohl jeder erfahren, der plastische Rekonstruktionen ausgeführt hat und anstatt des komplicirten Organes, das er sich im Geiste vorstellte, ein einfaches und völlig anders gestaltetes Modell erhielt. Daher haben sich seit Einführung der Schnitttechnik verschiedene Autoren bemüht, Verfahren zu ersinnen, welche es gestatten, auch aus den Schnitten die körperliche Form der Objekte in entsprechenden Vergrösserungen wieder aufzubauen.

An zwei Namen knüpfen sich hauptsächlich diese erfolgreichen Bestrebungen: His war der erste, der den gefährlichen Mangel der neuen Technik empfand und sich seiner zeichnerischen und plastischen Rekonstruktionsmethoden bediente; bald darauf empfahl Born das Plattenmodelliren, welches den Vortheil besass, unter möglichstem Ausschluss subjektiver Momente und ohne besonders schwierig zu sein, völlig einwandsfreie körperliche Modelle zu liefern. Endlich wurde das Feld von Strasser, der viele noch neuerdings »neu« erfundene Verfahren in Vorschlag brachte, Kaschtschenko und anderen weiter ausgebaut. So entstand eine grosse Anzahl von Methoden und Modifikationen, von denen sich neuerdings allein die theilweise erheblich veränderten ersten Vorschläge von His und Born, sowie die graphische Isolirung Kaschtschenko's als empfehlenswerth erhielten.

Eintheilung der Methoden.

Die Rekonstruktionsmethoden sind in zwei Gruppen einzutheilen. Entweder liefern sie ein plastisches Modell des geschnittenen Objekts (dreidimensionale Methoden) oder zeichnerische Wiedergaben (zweidimensionale Methoden, Rekonstruktionen in der Fläche) einer Oberflächenansicht oder auch eines zur Schnittrichtung senkrecht oder schräg stehenden Durchschnittes.

Von vorneherein wird ein von allen Seiten anzusehendes und demonstrables Modell unbestrittene Vorzüge vor einer Zeichnung, wenn sie auch noch so gut eine Ansicht wiedergiebt, haben, zumal es auch über komplicirtere Verhältnisse leicht Auskunft zu geben vermag. Indes ist hervorzuheben, dass die zweidimensionalen Verfahren meist eine schnellere Ausführung des Gewünschten gestatten.

Bei der Wahl der einzuschlagenden Methode wird man also zur zeichnerischen Rekonstruktion seine Zuflucht nehmen, wenn es sich um einfachere Formen handelt; sonst wird man das zeitraubende Plattenmodelliren kaum umgehen können.

Es ist also die Born'sche Plattenmodellirmethode, die ich vor allen anderen empfehle und die jetzt durchaus als die brauchbarste anerkannt ist. Neben dieser dürften als zeichnerische Verfahren Kaschtschenko's graphische Isolirung und His' projektive Konstruktion gute Dienste leisten.

Vorbereitung des Objekts.

Die Natur der Rekonstruktionsmethoden bringt es mit sich, dass das Objekt in bestimmter Weise dazu vorbereitet werden muss. Zur Noth lässt sich aus jeder Serie ein Modell herstellen, immerhin empfiehlt es sich, von jedem Objekt, das man rekonstruiren will, möglichst viele Lupenzeichnungen anzufertigen.

Stückfärbung und Einbetten in Paraffin erleichtern die Anwendung unseres Verfahrens erheblich; doch ist Schnittfärbung und Celloidineinschliessung nicht ausgeschlossen.

Die Behandlung der Schnittserie ist die übliche. Die Serie muss absolut lückenlos sein (eventuell muss man die ausgefallenen Schnitte nach Lage und Dicke genau kennen), und auch die Schnittdicke muss bekannt sein. Man wählt praktisch die gebräuchlichen Dicken von 5, 10, 12, 15, 20 etc. μ. Um eine genaue vergrösserte Wiedergabe aller Verhältnisse zu gestatten, dürfen die Schnitte nicht gefaltet, zerrissen oder zusammengeschoben sein, kurz alle Fehler bei Anfertigung der Serie rächen sich schwer bei der Rekonstruktion, man benutze bloss tadellose Schnittreihen!

* * *

Die im Folgenden zu beschreibenden Methoden der zeichnerischen oder plastischen Rekonstruktion beruhen auf demselben Principe: die einzelnen Schnitte oder Theile derselben (Linien, Punkte) werden als erheblich vergrösserte Bilder unter Berücksichtigung des richtigen Abstandes (Schnittdicke mal Vergrösserung) wieder auf- resp. nebeneinander gesetzt, um so das vergrösserte Abbild des Objekts zu erhalten.

Dabei empfahl es sich nun häufig, eine bestimmte Schnittrichtung zu wählen, also die Objekte zur Schnittebene des Messers zu orientiren. Einige Methoden verlangen eine bestimmte Richtung, bei anderen ist dies gleichgiltiger, doch wird man wohl stets einer der drei Hauptachsen parallel schneiden.

Weiterhin stellte es sich heraus, dass ein erforderlich genaues Aufeinanderpassen der einzelnen Bilder ohne bestimmte Marken nicht möglich ist; unliebsame seitliche Verschiebungen oder Drehungen der Schnittbilder kann die geübteste Hand nicht vermeiden. Auf verschiedenen Wegen suchten die Autoren ein exakteres Aufeinanderpassen zu erreichen. Schon die entsprechend vergrösserte Profilkontur gab einigen Anhalt, solche Fehler zu vermeiden und die Schnitte in richtiger Lage zu einander zu orientiren. Noch bessere Resultate lieferte ein anderes Verfahren. Strasser, Kaschtschenko und Born verfielen darauf, an dem Block, der das Objekt einschliesst, senkrecht zur Schnittrichtung stehende Linien, Flächen oder Platten anzubringen. Diese erscheinen in jedem Schnitte an genau der gleichen Stelle als Punkte oder Striche und gestatten, wenn man beim Zusammenfügen der Bilder diese Marken wieder übereinanderstellt, ein absolut fehlerfreies Orientiren der Figuren zu einander, die nun genau so liegen, wie die einzelnen Schnitte im unzerschnittenen Objekt gelegen hatten: Methode der Definirlinien, Richtlinien resp. -Ebenen.

Theoretisch genügten zwei Punkte oder eine Linie und ein Punkt, um einen Schnitt zu einem anderen ihm parallelen zu orientiren; praktisch wird man eine grössere Anzahl solcher Merkpunkte nicht umgehen können und wird mehrere Linien oder eine Linie mit mehreren bestimmt gelegenen Punkten benützen.

Die älteren Methoden: Einschmelzen eines Streifens Millimeterpapier (Strasser) oder einer Platte Calberla'scher Eiweissmasse in den Block (Born, übrigens eine sehr exakte Methode) u. a., über welche Strasser (1887) Bericht erstattet, haben den neueren Verfahren weichen müssen, die ich hier also allein berücksichtige. Sie bestehen darin, dass man am Block eine Ebene mit parallelen Leisten oder Furchen oder mehrere Ebenen senkrecht zur Schnittrichtung herstellt.

Man erhält dann im Schnitt entweder eine Linie mit Zacken in unregelmässigen Abständen, aber stets an derselben Stelle, oder mehrere

sich schneidende Gerade. Wichtig sind zur Vermeidung der Verschiebungen die Eckpunkte der Zacken oder Linien, und man wird ohne weiteres der Linie mit den Zacken den Vorzug geben, da diese Merkmale auf der ganzen Linie, also auch dem Präparat benachbart liegen, während die Scheitel der Winkel, in denen sich die Geraden schneiden, naturgemäss vom Objekt am weitesten entfernt liegen. Bei Benützung starker Vergrösserungen ist aber eine möglichste Nähe der Definirpunkte ein Erforderniss ersten Ranges.

Ist es möglich, diese Marken im Objekt selbst anzubringen, so genügen dessen Konturen zu ihrer Sichtbarmachung; liegen sie entfernt in der Einbettungsmasse, so müssen die Ebenen einen Anstrich erhalten, der die Linie auch im aufgehellten paraffinbefreiten Schnitt kenntlich macht.

Die einfachste Methode, welche eine überaus feine Orientirung des Objektes während des Einbettens gestattet und zugleich exakte Definirlinien liefert, also zwei Manipulationen, die sonst getrennt ausgeführt werden müssen, auf eine zurückführt, ist das

Verfahren von Born-Peter zur Herstellung von Richtlinien,

welches ich mit Angabe verschiedener praktischer Winke beschreibe, die dem Leser vielleicht überflüssig erscheinen, demjenigen aber, der sich der Methode bedienen will, wohl nicht unwillkommen sein dürften. Das dabei in Anwendung kommende Princip ist übrigens bereits von STRASSER erwähnt worden.

Unsere Methode besitzt den Vortheil, dass das früher gebrauchte Instrumentarium der Definirverfahren (Klapptisch, Orthostat, Ritzer etc.) wegfällt; sie schliesst sich direkt an die gewöhnliche Art an, in welcher Paraffinblöcke gegossen werden und ist in gleicher Weise für Paraffin wie für Celloidin anwendbar. Der Apparat besteht nur aus einer bestimmt adjustirten mit Ritzen versehenen Grundplatte und zwei Neapler Rähmchen. In der durch dieselben gebildeten Kammer wird das Objekt, während das Paraffin flüssig ist, genau orientirt. Der erhaltene parallelopipedische Block (Würfel) besitzt gleich nach dem Ablösen eine mit leistenartig herausstehenden Richtlinien besetzte Richtebene, die senkrecht zu vier Seiten des Blockes steht (s. Fig. 112).

Als Material der Instrumente benützen wir jetzt ausschliesslich Glas, da die Firma ZEISS in Jena Platten und Winkel in mustergiltiger Weise herstellt. Entsprechend der exakten Ausführung kosten »BORN-PETER's Richtplatten mit Winkeln« 40 Mark. Billigere Metallinstrumente — das Einritzen der Linien, das für Glas die Herstellung einer besonderen Maschine nöthig machte, ist hier leicht auszuführen — gestatten keine genaue Orientirung und machen auch oft beim Ablösen des Blockes Schwierigkeiten, so dass Glas trotz seiner Zerbrechlichkeit und des schlechten Wärmeleitungsvermögens, das sich beim Festwerden des Blockes unangenehm fühlbar macht, vorgezogen werden muss.

Das Instrumentarium besteht also:

1. aus einer runden (oder quadratischen) Glasplatte von 6 Cm. Durchmesser und etwa 2 Mm. Dicke, die auf 3 unten gerauhten Füsschen steht. In der Mitte ihrer Oberseite ist ein Quadrat von 2 Cm. Seitenfläche eingravirt; ein mittleres Feld dieses Quadrates, das von einer Seite zur anderen reicht und 1 Cm. Breite hat, ist mit eingeritzten Linien versehen, die streng untereinander parallel, zu zwei Seiten des Quadrates senkrecht stehen. Ihre Zahl beträgt etwa 16, ihr Abstand $^1/_2$—$^3/_4$ Mm., ihre Tiefe $^1/_{10}$ Mm.; letztere soll in der ganzen Länge der Furche gleich sein. Die Unterseite der Platte enthält ein breit eingeritztes Quadrat von tief schwarzen Linien, das genau dem auf der Oberseite befindlichen ent-

spricht. Dasselbe wird von einem doppelten Kreuz ebensolcher breiter dunkler Linien durchzogen.

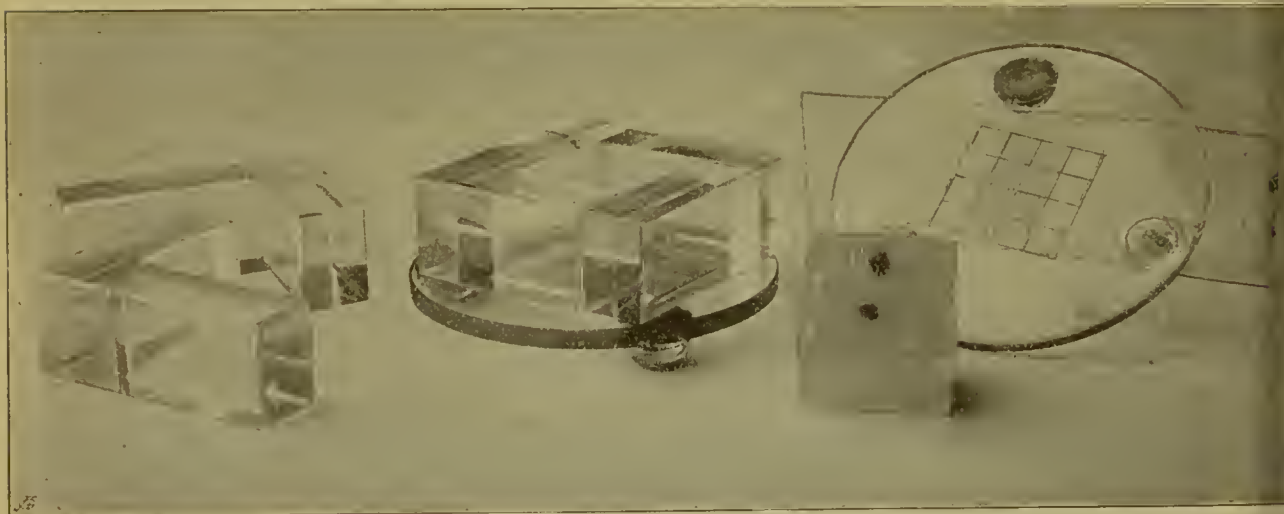
Die angegebenen Masse sind die der gebräuchlichen Platte; natürlich können sie beliebig variirt werden.

2. Die Rahmen, ebenfalls aus Glas, besitzen durchaus exakt rechte Winkel und gerade Kanten. Ihr kurzer Arm ist 2 Cm., der lange 2,5—3 Cm. lang, ihre Höhe beträgt 1,5 Cm.

Gebrauch bei Paraffineinbettung.

Grundplatte und Winkel werden vor dem Gebrauche sorgfältig mit Alkohol absolutus und dann mit Chloroform gereinigt, — eventuell die Ritzen noch durch Nachfahren mit einer Nadel gesäubert — und erwärmt. Ich stelle den Apparat in der Glasschale, in welcher die Einbettung vorgenommen werden soll, auf einige Zeit in den Wärmeschrank, bis er etwa die Temperatur des flüssigen Paraffins (50°) erlangt hat.

Fig. 112.



Die Figur zeigt das Instrumentarium zum BORN-PETER'schen Verfahren: rechts die Richtplatte mit den Ritzen, links die Winkel; in der Mitte ist die Kammer gebrauchsfertig zusammengesetzt. An der Richtplatte lehnt ein Paraffinblock mit zwei eingeschmolzenen Objekten, die durch die Definirfläche durchschimmern. Die Photographien zu Fig. 113 u. 115 verdanke ich der Güte des Herrn Professor SCHAPER.

In die Ritzen der kalten Platte dringt das heisse Paraffin nicht ein; ist der Apparat zu heiss, so lässt er leicht das eingegossene Paraffin ausfliessen.

Hierauf stellt man die Schale auf ein Lupenstativ und passt die Rahmen so auf die Platte, dass ihre Innenränder genau mit dem Quadrat von 2 Cm. Seitenfläche zusammenfallen und so eine rechtwinkelige Kammer gebildet wird (s. Fig. 112).

Darauf wird Paraffin von 68—70° in die Kammer eingegossen und das Objekt mittels angewärmten Sieblöffels in dieselbe übertragen.

Kälteres Paraffin füllt die Ritzen nicht aus, während bei höherer Temperatur das Loslösen des Blocks von der Platte schwierig sein kann.

Orientirung des Objekts.

Es ist nun leicht, nach den schwarzen Linien auf der Unterseite der Platte dem Objekt die gewünschte Lage zu geben. Dabei ist natürlich zu beachten, dass die Ritzen der Platte, die übrigens im flüssigen Paraffin unsichtbar werden und später die Leisten des Blockes liefern, senkrecht zur

Schnittebene laufen; die zu ihnen senkrecht stehenden Linien geben die Schnittrichtung an.

Die Kammer bleibt genügend warm, um ein oder mehrere Objekte, eventuell unter Lupe oder Mikroskop, genau zu orientiren; man kann auch jetzt noch das Erwärmen der Glasschale fortsetzen. Hält das Objekt nicht von selbst die gewünschte Lage inne, so fixire man es mit einer erwärmten Knopfsonde, bis es durch das von unten her erstarrende Paraffin befestigt worden ist. Man kann dasselbe auch, wenn es auf der Kante stehen soll (Sagittalserien von Embryonen) an einen der Ränder, auf welchen die Ritzen senkrecht stehen, anlehnen; damit das Objekt in den Bereich der Ritzen fällt, schiebe man den betreffenden Winkel vorher etwas in die Kammer herein.

Nach vollendeter Orientirung wird Eiswasser mit Eisstückchen in die Glasschale eingelassen; kaltes Wasser leistet dieselben Dienste, doch beschleunigt natürlich Eis den Process des Erstarrens erheblich.

Jetzt wird das Festwerden des Blockes überwacht, indem man seine Oberfläche immer mit heissem Spatel flüssig hält und den beim Erstarren des Paraffins entstehenden Defekt durch Zufliessenlassen von neuem deckt. Das letztere darf nicht zu heiss sein, da sich sonst zu viel Luftblasen im Block ansammeln. Man kürze diesen Process, der etwa 15 Minuten in Anspruch nimmt, ja nicht ab; auf langsamer Arbeit beruht wesentlich das Gelingen der Operation. Auch nach erfolgtem Festwerden lasse man den Block noch längere Zeit im Eiswasser. um über seine Festigkeit völlig sicher zu sein.

Unterbricht man das Erstarren zu früh, so zieht das noch schrumpfende Paraffin, das nur von der Oberfläche her sich kontrahiren soll, alle Seiten des Blockes konkav ein, auch die untere Fläche mit den Leisten, die dann natürlich als Richtfläche unbrauchbar wird. Unterwirft man den Block nach scheinbar völligem Festwerden starken Temperaturschwankungen, so treten in ihm unfehlbar Risse ein, die sich als weisse Linien kenntlich machen und stets durch das Präparat hindurchgehen; beim Schneiden bricht dies dann gewöhnlich mitten durch. Man vermeide also Anblasen des losgelösten kalten Blockes, etwa um die Definirfläche auf ihre Leisten hin zu prüfen, Umkehren des Paraffinwürfels im Eiswasser, wodurch die noch warme Oberfläche plötzlich abgekühlt wird, u. ä.

Der Block löst sich gewöhnlich schon vor vollem Festwerden von Platte und Winkeln los; ist dies nicht der Fall, hatten die Apparate oder das Paraffin nicht die richtige Temperatur oder war die Reinigung zu oberflächlich, so führt oft längeres Liegenlassen in Eiswasser (1 Stunde und mehr) zum Ziele; sonst ist die Procedur als misslungen zu betrachten. Der Block muss unter Erwärmen von den Instrumenten losgeschmolzen und die Einbettung wiederholt werden, ein Fall, der bei genauer Beobachtung der hier gegebenen Regeln kaum eintreffen dürfte.

Der so erhaltene Block (s. Fig. 112) ist völlig homogen, ohne Luftblasen und weist 5 glatte, spiegelnde Flächen auf. Auf der Grundfläche, an der das Objekt richtig orientirt durchschimmert (Objektfläche), stehen scharfe parallele Leisten genau senkrecht zu 2 Seitenflächen, welche als Fussfläche benutzt werden. Die Leisten entsprechen genau den Ritzen der Glasplatte und stellen eine ebenso elegante und brauchbare wie leicht gewonnene Definirebene dar.

Weiterbehandlung des Blockes.

Die Richtebene muss nun, um im Schnitt deutlich zu sein, angestrichen werden. Gerade hier zeigt sich der Vortheil der Stückfärbung.

a) Stückfärbung. Ist es nicht nöthig, die Schnitte nachzufärben, so genügt es, dem völlig getrockneten Block mittels eines weichen Pinsels einen dünnen Anstrich eines Alkohollacks zu geben. Sehr zu empfehlen ist ein »Spirituslack für mikroskopische Zwecke«, den die Firma Hutstein,

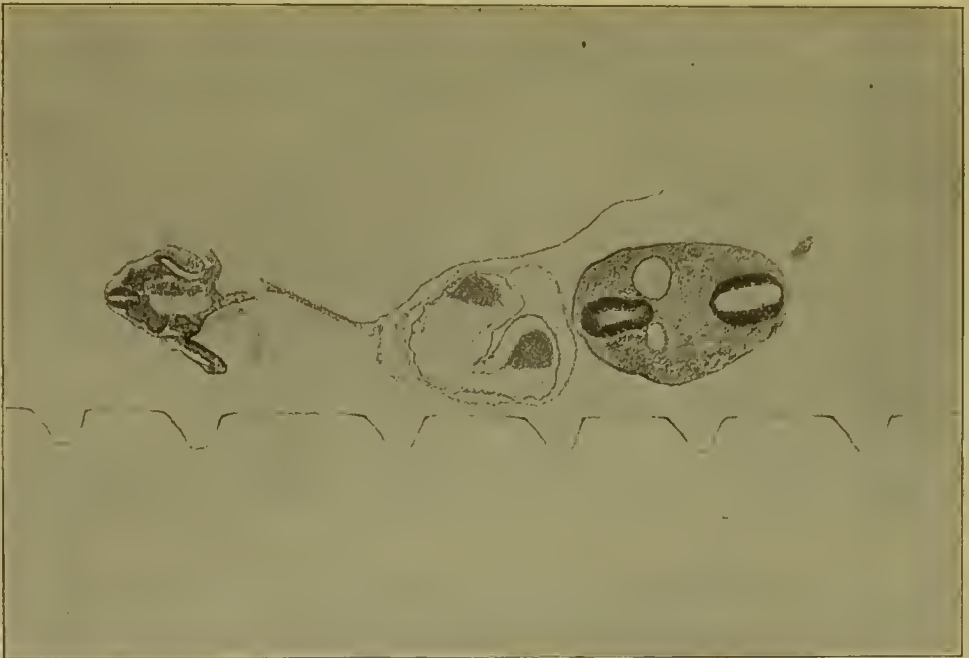
Breslau, Schmiedebrücke versendet: eine Lösung von Nigrosin in alkoholischer mit Dammar versetzter Schellacklösung, die vor dem Gebrauche noch zur Hälfte mit Alkohol absol. verdünnt wird. Ein hellblauer Ueberzug der Richtfläche, der das Objekt durchschimmern lässt, genügt vollkommen; der sekundäre Paraffinüberzug haftet an demselben vortrefflich. Die so gewonnene Linie ist im Schnitt sehr scharf und elegant, ohne jede Unebenheit, wie beifolgende nach einer Photographie angefertigte Figur zeigt (s. Fig. 113).

Fast dasselbe Resultat erhält man mit wohl jedem anderen Alkohollack, z. B. dem überall käuflichen Schuhlack »Indian Blacking« oder »Nubian Blacking«, der etwas heller und dickflüssiger, aber absolut brauchbar ist.

Zur Vorsicht lasse ich den Block einige Stunden trocknen.

b) Schnittfärbung. Schwieriger ist der Anstrich, wenn die Schnitte erst durch die Alkohole und Wasser geführt werden müssen, wobei natür-

Fig. 113.



Schnitt durch einen Eidechsenembryo mit Definirebene.

lich die Lacklinie gelöst würde. Hier leistet die unten beschriebene Lösung von Preussischblau in Aether (s. u. Celloidineinbettung) gute Dienste. Auch kann man eine Aufschwemmung von Russ in 1%iger Celloidinlösung benutzen, die man mittelst Zerstäubers auf die Definirfläche bläst; die getrocknete Schicht fixire man mit Schellackfixativ. Neumayer empfiehlt eine Mischung von Lampenschwarz und Zaponlack.

Nach dem Anstreichen wird der Block zurechtgeschnitten. Die bei der Einbettung entstandenen überhängenden Ränder der Fussfläche werden entfernt, ebenso alles überflüssige Paraffin.

Dann tauche man den Block auf einen Moment in Paraffin von derselben Sorte, das auf 75° erhitzt wurde, und wiederhole dies nach Erstarrung dieser Schicht, bis die Richtebene genügend eingehüllt ist. Natürlich muss dabei die Fussfläche des Blocks vor dem Eintauchen geschützt werden. Dieser sekundäre Paraffinüberzug, den Kaschtschenko zuerst empfahl, schützt die Definirlinie beim Schneiden.

Der Objekttisch des Mikrotoms wird jetzt mit einem mehrere Millimeter dicken Paraffinüberzug versehen, dieser erwärmt und sogleich mit dem definitiv festgestellten Mikrotommesser eine Ebene auf ihm geschnitten (die Erwärmung schützt das Messer). Auf diese Fläche setze man den Block auf, und zwar so, dass die Richtfläche senkrecht zur Messerschneide steht: dann liegen auch Definirebene und Richtlinie senkrecht zur Schnittfläche.

Der Paraffinblock wird sodann auf dem Objekttisch festgeschmolzen: in seine Fussfläche, die auf dem Tische ruht, ist eine kleine Rinne geschnitten worden, an deren Ausgang ein kleiner Tropfen überhitzten Paraffins gesetzt wird, welcher die Kerbe sofort ausfüllt und die Fläche fest auf den Objekthalter kittet.

Sodann schneide man den Block. Die

Behandlung der Schnitte

ist die übliche. Die Objektträger werden nach völligem Antrocknen der Schnitte mit verdünnter Strasser'scher Masse überzogen (10 Celloidin, 10 Aether sulf., 15 Ol. ricini), das Paraffin ausgelöst und ein Deckglas übergedeckt. Zu achten ist nur darauf, dass das auslösende Xylol völlig alkoholfrei ist. Ist dies nicht der Fall, so fällt der schwarze Lack aus; sonst leidet die Linie auch bei längerem Liegen in Xylol u. dergl. nicht.

Für nachzufärbende Schnitte vermeide man Flüssigkeiten, die Celloidin lösen (Nelkenöl), und setze dem Alkohol absol. $^1/_8$ Chloroform zu.

Neben jedem Schnitt nahe dem Objekt liegt dann die scharfe schwarze Definirlinie, mit den Zacken nach aussen gerichtet (cf. Fig. 113).

Gebrauch bei Celloidineinbettung.

Für Celloidineinbettung werden die Glaswinkel richtig auf die Grundplatte aufgesetzt (s. o.) und auf derselben befestigt. Einfliessenlassen von wenigen Tropfen Schellackfixativ in die Spalten zwischen den Rähmchen verhindert jedes Ausfliessen von Celloidin. Die Procedur des Eindickens nehme man recht langsam vor! Bei dem Einsetzen des Apparates mit der fast festen Einbettungsmasse in 80%igen Alkohol löst sich das Fixativ, Platte und Winkel fallen ab und man erhält einen Celloidinblock mit einer mit Leisten versehenen Richtebene, die ganz der des Paraffinwürfels gleicht.

Das Kenntlichmachen der Definirlinien im Schnitt geschieht durch Färben des Celloidins mit Pikrinsäure oder frischem Hämatoxylin (Kaschtschenko), oder durch einen Farbstoff, der Alkohol und Wasser widersteht. Sehr zu empfehlen ist eine vom Apotheker Bloch (Breslau, Neumarkt) hergestellte Flüssigkeit: 10 Theile Preussischblau werden mit 50 Theilen Terpentinöl verrieben und mit 150 Theilen Aether aufgenommen. Die etwas trocken gewordene Richtfläche wird damit dünn bestrichen. Ein Ueberzug ist nicht rathsam (bei Celloidin), da dieser den Farbstoff in sich hereinziehen würde. Die Definirlinie leidet auch so beim Schneiden nicht. Leider ist die Herstellung des Farbstoffes mit einigen Unannehmlichkeiten verknüpft, und das Pigment setzt sich nach einigen Monaten ab; deshalb rieth mir Herr Kahlbaum in Berlin, jedesmal erst vor dem Gebrauch die nöthige Menge in Aether aufzulösen.

Als Methode zur Herstellung der Richtlinien ist die beschriebene wohl die einfachste und exakteste; sie bringt — dies ist ein Hauptvortheil — die Linien nahe ans Objekt heran, gestattet aber auch, wenn es

wünschenswerth erscheint, dieselben weiter entfernt zu halten, indem man das Objekt erst bei Beginn des Erstarrens des Paraffins in die Kammer einbringt.

Einzig unmöglich ist, die Definirebene ins Objekt hineinzuverlegen, wie es bei Rekonstruktion grosser Organe nöthig wäre. In praxi wird man zwar wohl stets das Objekt so weit zerschneiden können, dass die Ebene noch nahe genug an den zu modellirenden Theilen steht — eventuell lassen sich die Linien noch beim Zeichnen verschieben (s. unten) —, doch kann man in diesem Falle auch zu anderen Methoden greifen, unter denen das ältere BORN'sche Verfahren den Vorzug verdient.

Uebrigens hat WILSON durch eine Modifikation die kostspielige Grundplatte überflüssig zu machen gesucht: er benutzt unseren Einbettungsapparat mit glatter Platte und orientirt nach den schwarzen Linien auf deren Unterseite vorher in 1%iger Osmiumsäure aufgehängt fixirte und mit Paraffin durchtränkte Nervenfasern, deren überhängende Enden durch die Winkel befestigt werden. Der ausgelöste Block besitzt neben dem Objekt 2—3 senkrechte schwarze Fasern als Richtlinien und braucht natürlich nicht angestrichen zu werden. Ich möchte daran zweifeln, ob diese Fäden auch bei stärkeren Vergrösserungen ein genügend exakter Ersatz für unsere Definirlinien sind; keineswegs ist das Verfahren einfacher, da bei unserer Methode die Richtfläche beim Einbetten ohne weitere Processe geliefert wird.

Dieser Umstand bringt es mit sich, dass ich jedes Objekt in obiger Weise mit Definirlinien versehe; so kann jede Serie, an deren Rekonstruktion nicht gedacht wurde, ein Modell liefern. Der Vortheil der Möglichkeit einer genauen Orientirung wiegt den Zeitverlust reichlich auf; auch können, wie erwähnt, 2—3 Objekte zugleich eingebettet werden.

Im Folgenden erwähne ich noch kurz die übrigen Methoden der Orientirung und des Definirens, die alle gute Resultate gegeben haben. Vorschläge, die von den Autoren später selbst verbessert, nur noch historischen Werth haben, lasse ich dabei aus dem Spiele.

Methoden des Orientirens.

Das Orientiren kann vor, während und nach dem Einbetten vorgenommen werden.

HIS bestimmte früher die Schnittrichtung erst im Schnitt durch Eintragen markanter Punkte, deren Entfernung er unter Berücksichtigung der Schnittdicke berechnete, in das vergrösserte Oberflächenbild, — ein Verfahren, das sich bei unbekannter Schnittrichtung einer Serie sehr empfiehlt.

Des Orientiren im Block, der auf dem Objekttisch festgeschmolzen in die gewünschte Richtung gebracht werden soll, wird nur bei Verwendung des durchsichtigen Celloidins mit einigermassen annehmbarer Genauigkeit erfolgen können.

Orientirung vor der Paraffineinbettung in durchsichtigem Vorharz wird empfohlen besonders bei kleinen kugeligen Objekten (Insekteneier), bei denen allerdings an eine Rekonstruktion nicht gedacht wird; übrigens leistet dasselbe auch unsere Methode.

Das Ei wird in dickem Vorharz auf geripptem Papier, Linnen oder Glas unter dem Mikroskop in die gewünschte Stellung gebracht und in derselben auf der Unterlage festgeklebt. Vom Block löst man die letztere ab und schneidet senkrecht zu dieser Fläche (PATTEN, WOODWORTH, DREWS, HOFMANN). Ueber das Nähere siehe bei den Autoren.

Methoden des Anbringens von Definirflächen.

Wie erwähnt, werden beim Definirverfahren Ebenen am Block senkrecht zur Schnittrichtung angebracht, die eventuell ein System von parallelen Ritzen erhalten. Eine ganze Reihe von Instrumenten sind ersonnen worden, um diesen Aufgaben zu genügen.

1. Zum Herstellen der Flächen dienen die „Beschneider“, wie sie Kaschtschenko, Born, Strasser, Éternod, J. Schaffer, Suzuki konstruirt haben. Entweder werden sie am Mikrotom befestigt, wobei dessen Messer selbst die Arbeit des Schneidens übernimmt (Kaschtschenko gab »Beschneider« an für Mikrotome mit Schlittenführung oder senkrechter Hebung: Schanze, Jung, Becker—Suzuki für solche mit senkrechter Mikrometerschraube: Miehe, Schanze), oder sie bestehen aus einer einfachen (Schaffer) oder komplicirten (Éternod) Guillotine, die an dem Block, welcher auf dem vom Mikrotom abgenommenen Objekttisch befestigt ist, senkrecht zu dessen Grundfläche Ebenen schneidet. Falls man keinen drehbaren Objekttisch (Born s. unten) besitzt, kann man sich dieser Instrumente mit Vortheil bedienen.

Kaschtschenko's und Suzuki's Apparate werden an Stelle des Tisches in den Objekthalter eingeklemmt; der Objekttisch wird durch den Beschneider gesteckt, steht so senkrecht zu seiner früheren Richtung und trägt den Block, an dem jetzt — ebenfalls senkrecht zur späteren Schnittrichtung — unter Drehung des Objekttisches beliebig viele Flächen mittels des Mikrotommessers geschnitten werden können.

2. „Ritzer«, welche die Ebene mit parallelen Furchen versehen, sind ebenfalls mehrere im Gebrauch, jetzt wohl nur solche, die am Mikrotommesser selbst befestigt werden können; doch sind solche Instrumente auch an den Guillotinen Schaffer's oder Éternod's anzubringen. Es sind Metallrechen, deren scharfe, spitze Zähnchen im Paraffin (oder Celloidin) ebenso scharfe Furchen einritzen. Keibel hat einen solchen Apparat angegeben; Born's Ritzer kann an Messer von verschiedener Dicke angepasst werden und ist zurückklappbar, Alexander's Instrument erlaubt auch bei schräggestelltem Messer Ritzen in Celloidinblöcke einzuschneiden, ist aber ziemlich komplicirt gebaut. Die empfehlenswertheste Methode ist also

Born's altes Verfahren.

Born schloss das Objekt in einen Paraffinwürfel ein, den er auf die mit festgestelltem Messer angeschnittene Paraffinfläche eines länglich rechteckigen, um 90° drehbaren Objekttisches (»Klapptisch«) stellte und so anschmolz, dass die Objektfläche, die senkrecht zur Grundfläche steht, nach Umklappen des Tisches nach oben zu liegen kommt.

Der Block ist am besten nach unserer Methode herzustellen, eventuell unter Benützung von Metallinstrumenten.

Born brauchte früher dazu besondere »Orthostaten«: rechteckige Metallwinkel, auf deren einem Schenkel das Objekt richtig orientirt angeschmolzen wurde; der andere Schenkel wurde auf den Mikrotomtisch gestellt, zu dessen Ebene das Objekt nun auch richtig gelagert war. Der Block wurde festgeschmolzen und das Instrument durch Erhitzen entfernt.

Darauf wird der Tisch um 90° umgeklappt, die Objektebene mit dem Mikrotommesser bis an, resp. in das Objekt geschnitten, das Messer gehoben, der Ritzer an demselben befestigt, die Ebene mittels der Messerführung geritzt und die rauhe Oberfläche der zwischen den Furchen stehenden Leisten nochmals mit dem Mikrotommesser geebnet.

Nach Zurückklappen des Tisches erhält man eine zur Schnittebene senkrecht stehende Definirfläche, die in bekannter Weise angestrichen und weiter behandelt wird.

Nachtheile dieses Verfahrens sind seine Umständlichkeit und die Erfahrung, dass auch nach längerer Uebung die Ritzen leicht zu weit vom Objekt entfernt bleiben oder dasselbe unliebsam verletzen; der Abstand von demselben ist nicht leicht zu berechnen. Immerhin ist diese Methode für die wenigen Fälle, in denen man die Ebene ins Objekt verlegen will, die einfachste und brauchbarste; die so gewonnenen Richtlinien sind ebenfalls scharf und zeigen Zacken, die mit dem Scheitel nach dem Objekt zu liegen.

Alexander's Verfahren.

Alexander ist nach mehrfachen Versuchen. Definirflächen an Celloidinblöcken anzubringen, dazu geführt worden, diese Ebene ins Objekt selbst hineinzuverlegen. Er ritzt die geschnittene Fläche, die natürlich eines Anstriches nicht mehr bedarf, mit seinem Drittelmillimeterrechen und klebt den Block von neuem senkrecht zu dieser Stellung auf den Tisch auf. Embryonenköpfe schneidet er erst sagittal bis zur Medianebene, bringt an diese Fläche eine Richtmarke an und schneidet die zweite Fläche frontal. Seine Methode ist auch zu verwenden, wenn man die Definirebene ausserhalb des Objektes legt, hat aber in ihrer Umständlichkeit und ihren vielfachen Fehlerquellen (Aufkitten des Blocks zur Definirung, Loslösen, erneutes Aufkitten zum Schneiden) keinerlei Vorzüge vor den beschriebenen.

Technik der Rekonstruktionsverfahren.

Zeichnerische Rekonstruktionsmethoden.

His' projektive Konstruktion.

Die älteste Methode, die angegeben wurde, um aus einer Schnittserie ein plastisches Bild zu gewinnen. stellt die projektive Konstruktion von His vor; sie ist bei Anwendung von Definirlinien auch jetzt noch sehr zu empfehlen.

Dieses Verfahren gestattet Schnittbilder des Objektes, deren Flächen senkrecht zur Schnittebene der Serien liegen, in beliebiger Anzahl herzustellen und so dasselbe zeichnerisch durchzuarbeiten, wodurch man einen ausserordentlich genauen Einblick in den Bau des Embryos gewinnt; derselbe kann im Anschluss daran frei modellirt werden (s. u.).

Hier ist besonders ein vorheriges Zeichnen des Objekts in verschiedenen Lagen, eventuell noch im flüssigen Paraffin vonnöthen.

»Die Ausführung dieser Rekonstruktion beruht auf sehr einfachen Grundsätzen (His, 1880). Ein Papierblatt wird in parallele Zonen eingetheilt, derart, dass jede Zone gemäss der angewandten Vergrösserung einer Schnittdicke entspricht. Die Distanzen der einzuzeichnenden Theile von den Grundlinien« (Richtlinien, s. u.) »werden für jeden einzelnen Schnitt ausgemessen und an entsprechender Stelle in die Projektionsstelle eingetragen.« Die Verbindung der so gewonnenen Grenzpunkte ergiebt eine Konturzeichnung der Organe im gewünschten Schnitt, z. B. Medianschnitt. Die Weite des Abstandes der einzelnen parallelen Zonen ergiebt sich aus Schnittdicke und Vergrösserung. Die Masse entnimmt man den Zeichnungen der Schnitte, als Unterlage benützt man am besten Millimeterpapier.

Zur richtigen Orientirung — ich bleibe beim Beispiel des Medianschnittes — verwendet man entweder eine entsprechend vergrösserte Profilzeichnung oder eine Richtlinie (Kaschtschenko's Reihenprojektion).

1. Im ersteren Falle trägt man die gemessenen Abstände der Organpunkte einfach auf der die Lage des Schnitts betreffenden Linie einer auf Millimeterpapier aufgeklebten Pause der Profilzeichnung ein.

2. Ist die Serie mit Richtlinien versehen, so kann man zwei Wege einschlagen,

a) Profilkonstruktion mit Aufhebung der Drehung der Medianebene. Man verlängert die Mediane der Schnittzeichnung bis an die Definirlinie, bestimmt den Abstand der auf diesen Graden gelegenen Grenzpunkte der geschnittenen Organe von der Definirlinie und trägt diese Punkte auf die horizontalen Linien von Millimeterpapier auf, eine vertikale Linie als Richtebene benutzend.

Man erhält so zugleich im Medianschnitt die Aussenkonturen des Körpers selbst und die Umrisse der in ihm gelegenen Organe. Allerdings wird die meist gekrümmte Mittelebene auf diese Weise als gerade Fläche projicirt und Organe, die auf dem Medianschnitt des Embryo selbst nur schräg getroffen wären (Chorda). sind in ganzer Länge dargestellt.

b) Will man diese Biegung vermeiden, so messe man den Winkel, in welchem im ersten Schnittbild die verlängerte Mediane die Definirlinie schneidet und trage von den folgenden Zeichnungen nur das ein, was sich auf einer Geraden befindet, die vom gleichen Punkt der Richtlinie im gleichen Winkel abgeht.

In ähnlicher Weise lassen sich Frontalansichten der Organe, auch schräge Bilder anfertigen; vortheilhaft ist hierfür das Beschneiden des Objektes ringsherum, damit die verlängerte Schnittlinie der Zeichnung stets auf eine Richtlinie auftrifft; natürlich kann man sie winklig abgeknickt auch bis an eine gezackte Definirlinie fortführen.

Wenn man mehrere parallele Ebenen in der gleichen Weise zeichnerisch rekonstruirt und diese Konstruktionsbilder aufeinander legt, so ist es auch möglich, plastische Ansichten durch geeignete Schattirung zu geben; doch ist statt dieses sehr umständlichen Verfahrens Kaschtschenko's graphische Isolirung mehr zu empfehlen.

Dieselbe Methode der projektiven Konstruktion erfand übrigens von His unabhängig Krieger, und Woodworth hat sie neuerdings modificirt. Er umgeht das Zeichnen der Schnitte ganz, benutzt die senkrecht stehende Mediane als Richtlinie und trägt seitlich von ihr die vom Schnitt direkt mit dem Okularmikrometer abgelesenen Masse in entsprechender Vergrösserung und dem bestimmten Abstand auf. Natürlich ist dies nur bei völlig symmetrischen Organen anwendbar.

Kaschtschenko's graphische Isolirung.

Eine plastische Anschauung einfacher körperlicher Verhältnisse gewannen viele Forscher schon aus den Serien durch »Pauskombination«: Sie zeichneten die interessirenden Theile der Schnitte auf durchsichtiges Papier und hielten diese Umrissbilder richtig angeordnet ans Licht, wodurch eine Anzahl von Konturen sichtbar wurde, die zu einem Bild vereinigt eine Aufsicht des Organs gaben, oder zeichneten die Umrisse gleich in der nöthigen Orientirung auf ein Blatt Papier in einander. (Froriep, Dohrn, Stöhr, K. Schaffer; Strasser's »Frontansicht«, Kaschtschenko's »Flächenprojektion«). Diese Methode hat Kaschtschenko modificirt und ausgebildet, durch Anbringung von Definirlinien verfeinert und unter dem Namen der »graphischen Isolirung« beschrieben.

Der zu schneidende Block muss für diese Art der Rekonstruktion mit Richtebenen versehen werden.

Die Konturen der zu isolirenden Organe werden in beliebiger Vergrösserung auf ein Blatt Papier so übereinander gezeichnet, dass sich die Definirlinien genau decken. Dadurch entsteht ein System von um- und nebeneinander stehenden Linien, die nun entsprechend schattirt die Aufsicht des Organs senkrecht zur Schnittebene geben.

Auch hier bedient man sich beim Zeichnen mit Vortheil des Projektionsapparates mit seinem grossen Gesichtsfeld und wird so, selbst wenn die Richtlinie weit von dem Organ entfernt liegt, meist eine umständliche »komplicirte Isolirung« (Verschiebung von Schnitt und Zeichnung und Benutzung eines in beiden Gesichtsfeldern sichtbaren Konturs als Definirlinie) vermeiden können.

Die graphische Isolirung besitzt den Fehler aller zweidimensionalen Methoden, nur eine Ansicht zu geben; legt man die Schnittrichtung übrigens nicht völlig parallel einer der Hauptaxen, so erhält man oft ein instruktiveres Bild in Schrägansicht. Die gewöhnlich gefertigten Querschnittserien sind nur selten zu verwenden.

Ferner erfordert dies Verfahren beim Schattiren des Liniensystems einen nicht gewöhnlichen Grad von Zeichentalent und trägt so ein bedeutendes subjektives Moment in die Methode; natürlich muss bei diesem Plastischgestalten der Zeichnung die Schnittdicke mit berücksichtigt werden.

Einigermassen komplicirte Gebilde lassen sich mittels dieser Methode kaum wiedergeben; doch ist sie sehr zu empfehlen beim Studium des Verlaufs und der Verzweigungen dünner Gebilde, wie Nerven und Gefässe, welche etwas spröde Objekte für das Plattenmodelliren sind.

Diagramme.

Einen anderen Weg, körperliche Vorstellungen aus Schnitten zu gewinnen, hat Strasser angegeben, und nach ihm sind Justesen und Vosmaer auf denselben Gedanken verfallen. Man kann auch die gezeichneten Schnitte genau orientirt schnell nacheinander dem Auge entgegenbringen, so dass der Beschauer durch die Folge der sich verändernden Konturen einen körperlichen Eindruck des Gegenstandes erhält; natürlich ist dies nur ein Hilfsmittel für plastische Anschauung und kein Ersatz für ein Modell.

Stroboskopische Betrachtung des Diagramms.

Justesen heftet seine Zeichnungen auf einander, Strasser hält sie noch durch zwischengefügte Streifen in der der Vergrösserung und Schnittdicke entsprechenden Entfernung; beim Durchblättern dieses Buches erhält man einen Einblick in die Konturveränderungen des gezeichneten Organs.

Plattendiagramme.

Plattendiagramme, die hintereinander aufgereiht von der Seite gesehen einen Einblick in den körperlichen Bau der Objekte gestatten, hat Strasser warm empfohlen. Er reiht die Platten mit den Zeichnungen richtig orientirt auf Fäden auf; der Minimalabstand entspricht wieder der Schnittdicke, kann aber beliebig vergrössert werden durch Verschiebung der Zeichnungen, so dass auch die inneren Theile der Schnitte sichtbar werden.

Vosmaer zeichnet seine Schnitte mit lithographischer Kreide auf transparentes Celloidin, das leicht mit der Schere in die gewünschte Form geschnitten werden kann. Diese durchscheinenden Platten steckt er hintereinander in einen Metallrahmen, der an den Seiten offen ist, so dass die durchscheinenden Konturen ein körperliches Bild seines Objektes geben.

Von den plastischen Rekonstruktionsmethoden möchte ich erst die

freie Modellirung nach His

erwähnen.

His stellt aus Wachs oder Thon frei nach dem Objekt ein Modell in bestimmter Vergrösserung her. Genaue Kontrolle gaben ihm neben den

reichlichen Lupenzeichnungen des Embryo seine Profilkonstruktionen; mit dem Tasterzirkel vermochte er auch Entfernungen von markanten Punkten, deren Abstand beim Messen des Schnittes unter Berücksichtigung der Schnittdicke berechnet wurde, exakt anzugeben und so ein naturgetreues Abbild seines Objektes anzufertigen. Doch verlangt diese Methode, mittels welcher der Autor seine in der ganzen Welt verbreiteten plastischen Serien der Entwicklung des Hühnchens, des Menschen modellirt hat, ein seltenes technisches Können des Arbeiters und schliesst, da nur einzelne Punkte und nicht wie bei dem Plattenverfahren, alle Punkte der Schnittkonturen objektiv gegeben werden, beträchtliche Fehlerquellen ein, die nur ein äusserst eingehendes, allerdings sehr nützliches Durcharbeiten des Objektes ausschliessen kann. So hat dies Verfahren wohl überall der

Plattenmodellirmethode (Born)

weichen müssen, die sich allgemeiner Benutzung erfreut.

Ihr Princip formulirt Born selbst (1900) folgendermassen:

»Aus jedem Schnitte einer gleichmässigen Serie werden die Theile, die man plastisch rekonstruiren will, in einer bestimmten Vergrösserung auf Platten aufgezeichnet, die ebensovielmal dicker als die Schnitte der Serie sind, wie die Flächenvergrösserung beträgt. Die interessirenden Theile werden dann aus den Platten herausgeschnitten und die Ausschnitte der Reihenfolge nach aufeinander geklebt. Geschieht dies in der richtigen Weise — ohne seitliche Verschiebungen —, so muss, nachdem die Stufen zwischen den Rändern der Platten geglättet sind, ein in allen drei Dimensionen richtig vergrössertes plastisches Abbild des durch die Schnittserie zerlegten Objektes herauskommen.«

Man erkennt also einmal, dass dies Verfahren ein beliebig vergrössertes Modell auf völlig einwandfrei objektivem Wege liefert, das zerschnitten, geöffnet, kurz wie das Objekt selbst »präparirt« werden kann und selbst Einblick in die verwickeltsten Verhältnisse gestattet, und ersieht sodann aus der Nothwendigkeit eines exakten Aufeinanderpassens der Plattenausschnitte, dass das Anbringen einer Definirebene ein wichtiges Erforderniss ist.

Es ist nöthig, die einzelnen Proceduren genauer zu besprechen.

Zeichnen.

Das Zeichnen der Schnitte ist, wenn möglich, mittels des Projektionsapparates vorzunehmen, der ein grosses Gesichtsfeld fast ohne Verzerrungen giebt. Er übertrifft den »Embryographen« von His und andere Apparate, die schwerer zu handhaben sind, bedeutend.

Man zeichne bei berechneter Vergrösserung (s. u.) die interessirenden Gebilde des Schnittes, am besten so viel wie möglich, um später nichts nachtragen zu müssen; es ist ja nicht nöthig, alles Gezeichnete auszuschneiden, und bei Verwendung von Kopirstiften kann man mehrere Modelle aus einer Zeichnung anfertigen.

Genau verfolge man die Richtlinie, natürlich blos ihren Innenkontur, da der Aussenrand der Dicke der aufgetragenen Farbschicht entsprechend wechselt. Ist sie, was bei dicken Schnitten vorkommen kann, umgefallen und stellt ein breites gezacktes Band dar, so muss man beide Grenzlinien angeben.

Aendern sich die Verhältnisse nur unmerklich von Schnitt zu Schnitt, so braucht man nicht jeden Schnitt zu modelliren; man zeichne nur jeden zweiten oder dritten, muss aber dann dies anmerken, um die betreffenden Platten zwei-, resp. dreimal so dick walzen zu müssen. Ebenso notire man

ausgefallene Schnitte und zeichne an dieser Stelle einen Nachbarschnitt doppelt (oder walze seine Platte in doppelter Stärke).

Man giebt die Konturen entweder auf den fertigen Wachsplatten mit weichem Bleistift an oder, was entschieden vorzuziehen ist, auf Papier, das später den Platten einverleibt wird.

Bei der

Wahl der Vergrösserung

beachte man einmal, dass sehr kleine Gebilde, z. B. feine Spalten, beim Modelliren kaum darzustellen sind, andererseits, dass sich dickere Platten von 2,5 Mm. und mehr Höhe schlecht walzen und schwierig ausschneiden lassen. Doch wähle man die Vergrösserung so hoch wie möglich: Das Modell kann dadurch nur an Deutlichkeit gewinnen. Ich schneide meine Serien gewöhnlich 10 μ stark und modellire bei 50-, 100-, 150facher Vergrösserung.

Der Projektionsapparat giebt wohl stets ein genügend grosses Gesichtsfeld, um mindestens 3 Zacken der Richtlinie zeichnen zu können; man wird sich kaum genöthigt sehen, das Bild zu verschieben und Definirlinie und Objekt durch sekundäre, in beiden Gesichtsfeldern sichtbare Konturen in richtige Lage zu einander zu bringen.

Liegt die Definirlinie zu weit vom Objekt entfernt, so lässt sie sich auch ohne Fehler für die Rekonstruktion unter Benutzung von parallelen, an beiden Kanten mit gleicher Masseintheilung versehenen Linealen demselben nach Wunsch nähern; natürlich dürfen die Endpunkte der Zacken dabei nicht seitlich verschoben werden. Man vermeidet so das umständliche Herstellen allzu grosser Platten.

Herstellung der Platten.

Als Material der Platten hat sich nur das von Born zuerst verwandte gelbe Wachs erhalten (1 Kilo davon kostet hier 3,20 M.). Andere Surrogate, wie Pappe (Karton, Bromann), Bleche, Glas, haben dasselbe trotz seiner Undurchsichtigkeit und seines Preises nicht verdrängen können.

Früher goss Born die Wachstafeln auf heissem Wasser, ihre Dicke aus dem Gewicht des verbrauchten Wachses berechnend. Diese Methode wurde bald durch das Auswalzen der Platten verdrängt.

Jetzt werden nach Strasser-Born nur Wachs-Papierplatten gewalzt, welche durch das auf einer oder auf beiden Seiten anhaftende Papier fester und elastischer geworden sind als das reine Wachs. Solche Tafeln sind bei Dr. Grübler in Leipzig käuflich zu erhalten; doch sind diese Platten nur klein, und ihre Benutzung kommt, da man von ihnen stets nur einen geringen Ausschnitt braucht und den Rest nicht verwerthen kann, theuer zu stehen. Deshalb stelle man sie sich besser selbst her, wobei sich das beim Ausschneiden ausfallende Wachs stets von neuem verwenden lässt.

Die Platten werden auf einem Lithographirstein zwischen Metallstreifen von bestimmter Dicke ausgewalzt. Nebenstehende Figur 115 zeigt das Instrumentarium, das zum Gebrauch nöthig ist. Es besteht in Folgendem:

1. Ein grosser, glatter, ausrangirter Lithographirstein, wie er bei jedem Lithographen für wenige Mark zu haben ist.

2. Eine eiserne Walze, sehr genau gedreht, von 4 Cm. Durchmesser und 30—40 Cm. Länge, deren Axe sich jederseits in den umgebogenen Enden eines eisernen Bügels dreht, welcher 1 Cm. von der Walze entfernt läuft. An den Bügelenden sitzen die hölzernen Handgriffe. Derartige Walzen sind zu haben beim Mechaniker Kleinert, Breslau, Breitestrasse, zum Preise von 15 Mark (30 Cm. Länge) und 16 Mark (40 Cm. Länge).

3. Eine Serie von Messingstreifenpaaren (ebendaselbst pro Paar für 1,75 Mark zu erhalten) von 50 Cm. Länge, 1,5 Cm. Breite und von

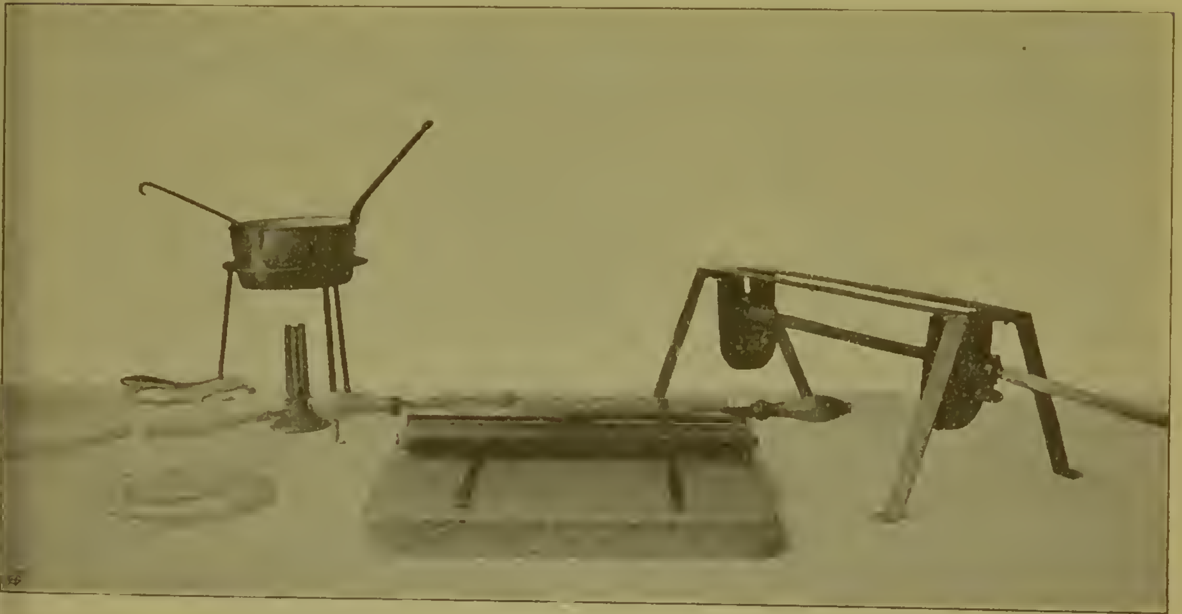
verschiedener Dicke. Ihre Stärke giebt die Höhe der zu walzenden Platte an; ein Satz von 0,5—0,6—1,0—1,2—1,5—1,75—2,0—2,25 Mm. wird bei den üblichen Schnittdicken und den gebräuchlichen Vergrösserungen ausreichen.

Für das im folgenden beschriebene Verfahren fertige man die Zeichnungen am besten auf schlechtes, ungeleimtes Zeitungspapier, das sich mit Terpentinöl gut durchtränkt. Auch Florpapier empfiehlt sich. Man schneide alle überflüssigen Papierränder weg, kann auch mehrere Zeichnungen auf einem Blatt anbringen und zugleich walzen.

Vor Beginn des Walzens erwärmt man den Lithographirstein (durch Ueberfahren mit einer Bunsenflamme, Stellen vor einen Gasofen u. a.), da die ersten Platten auf kalter Grundlage springen und missrathen.

Der erwärmte Stein wird mittels eines breiten Borstenpinsels mit Terpentinöl bestrichen, das Papier mit der Zeichnung nach der Unterlage zu aufgelegt und mit der Hand glatt gedrückt, bis es mit Terpentinöl ganz

Fig. 114.



Instrumentarium zum Plattenwalzen. In der Mitte der Lithographirstein mit den Messingstreifen und der Walze. Rechts ein Apparat zum Anwärmen der letzteren. Links ein Tiegel mit Wachs, davor ein Glas mit Terpentinöl und dem Borstenpinsel.

durchtränkt ist. Die beiden Messingstreifen, welche der Dicke der zu erhaltenden Platte entsprechen (bei einer Schnittdicke von z. B. 10 μ und 100facher Vergrösserung beträgt die Höhe der Platte $100 \times 10 = 1000\ \mu = 1$ Mm.), ebenfalls mit dem Oel bestrichen und zu beiden Seiten des Papiers auf den Stein gelegt. Die Umgebung der Zeichnung wird nochmals, um später das überflüssige Wachs leichter entfernen zu können, stark befeuchtet.

Dann giesse man Wachs, das in einem Tiegel über einem Dreifuss flüssig erhalten wird, möglichst gleichmässig vertheilend auf das Papier. Man übt sich bald darauf ein, mit einem Male nicht mehr oder weniger Wachs zu nehmen, als zu der betreffenden Platte nöthig ist. Das aufgegossene Wachs darf nicht zu heiss sein, da die Platte in diesem Falle zu langsam fest wird und Luftblasen enthalten kann; es darf also nicht rauchen.

Hierauf lässt man das Wachs etwas abkühlen, bis es eben noch flüssig ist, eventuell durch Fächeln das Festwerden beschleunigend; hat das Wachs gerade die richtige Temperatur, so ist dies unnöthig.

Auf diese Platte legt man ein Stück Florpapier von der Grösse der Zeichnung — sind die Platten sehr dünn, so kann man dieses zweite Papierblatt entbehren, — und fährt mit der über einem geeigneten Gestell erhitzten Walze über das Wachs hin, anfangs leicht, dann immer kräftiger drückend, bis die Walze direkt auf den Metallstreifen entlang gleitet und die Oberfläche der Platte völlig glatt ist. Das überflüssige Wachs wird dabei an den beiden freien Flächen herausgedrängt; ist die Tafel stellenweise zu dünn, so wird frisches Material zugegossen. So lässt sich ohne Schwierigkeit eine Wachspapierplatte von genau bestimmter Dicke erhalten.

Darauf umschneidet man die Platte an der Grenze des Papiers mit einem Holzspatel, hebt sie, während sie noch halbweich ist, vom Stein vorsichtig ab und setzt sie zwischen Fliesspapier einige Stunden gelindem Druck aus: man bedeckt die aufeinander geschichteten, durch Fliesspapier getrennten Platten mit einem Brett. Die Platten werden dann einzeln zum Trocknen gelegt, wobei die eventuell durch das Terpentinöl unkenntlich gewordene Zeichnung durch Verdunsten desselben wieder deutlich hervortritt.

Der Stein wird sofort von den Wachsresten befreit, die von dem mit Terpentin befeuchteten Stein sich leicht entfernen lassen und zu dem flüssigen Wachs zurückgebracht werden, wird gereinigt und von neuem befeuchtet.

Diese Procedur des Walzens geht schneller vor sich als das Lesen derselben, so dass ein gut eingearbeiteter Diener 25 und mehr Platten in einer Stunde anfertigen kann.

Ausschneiden der Platten.

Mit dem Ausschneiden der völlig trockenen Platten kann schon, falls sie nicht zu dick sind, am Tage nach dem Walzen begonnen werden. Es geschieht mit ganz kurzen, schmalen, scharfen Messern (abgeschliffene Skalpelle) auf Holz oder Glas (Schaper).

Zuerst schneide man im Innern der Zeichnung gelegene Hohlräume aus und lasse zwischen Theilen, die isolirt stehen oder nicht fest genug zusammenhängen, provisorische Wachsstreifen (Brücken) stehen, welche beim Zusammenfügen des Modells entfernt werden. Das Aufzeichnen dieser Brücken nehme man anfangs vor dem Ausschneiden vor, da jede einigermassen komplicirte Platte ein oft ebenso verwickeltes Brückensystem tragen muss, das beim Schneiden selbst gar nicht übersehen werden kann. Ausserdem ist es vortheilhaft, diese Verbindungsstreifen an aufeinander folgenden Platten in verschiedener Richtung anzulegen, damit sich nicht die Brücken beim Aufeinandersetzen der Ausschnitte decken und etwa einen Theil des Modells in ganzer Höhe verbergen.

Ebenso verbindet man die Definirlinie durch 2—3 Brücken mit dem Objekt und lässt an ihrer Innenseite einen fingerbreiten Streifen stehen, damit, gleich, ob die Zacken dem Präparat zu oder von ihm weg stehen, die Orientirungsmarken nach aussen zu liegen kommen und nicht durch Brücken die Einsicht in dieselben gestört wird.

Einige Ungenauigkeiten sind beim Ausschneiden nicht zu vermeiden; so wird man z. B. dünne Epithelstreifen verdicken müssen, um ihnen eine gewisse Festigkeit zu verleihen u. a.

Zusammenfügen der Ausschnitte.

Die ausgeschnittenen Platten werden nun so aufeinander gelegt, dass die Wachsstreifen mit den Richtlinien und Zacken genau senkrecht übereinander fallen, ohne irgend welche Drehung oder seitliche Verschiebung. Natürlich kontrollirt man zugleich das exakte Aufeinanderpassen der Zeichnungsausschnitte und wird sich bei kleinen, oft nicht zu vermeidenden Ungleichheiten mehr nach dem Präparat als nach der Ebene richten.

Ich pflege die sämmtlichen Ausschnitte des Modells, einen auf den andern passend, erst einmal genau übereinander zu schichten, und zwar aus zwei Gründen:

Erstens messe ich die Höhe des Plattenhaufens nach und finde so, ob sie der theoretisch berechneten Modellhöhe entspricht. Meist erhält man einen etwas grösseren Betrag: die beim Schneiden aufgeworfenen Ränder der Platten drängen die Ausschnitte etwas von einander ab, ein stumpfes Messer und zu festes Papier verstärken diesen Fehler, der sich durch mehrstündige Beschwerung der aufgeschichteten Platten mit einer belasteten Glasplatte völlig heben lässt.

Schaper verringert ihn durch Abziehen des Papiers von der ausgeschnittenen Wachsplatte, wobei man allerdings der oft orientirenden Bleistiftkontur verlustig geht.

Zweitens wird die Definirebene, wenn etwa 5 zu 5 Ausschnitte unabhängig verarbeitet und verschmolzen werden, infolge kleiner unvermeidlicher Abweichungen beim definitiven Aufbau nie eine gerade Fläche bilden, sondern immer mehr oder weniger gezackt sein: das erste Plattenpaket ist um ein Geringes nach der einen, das andere nach der anderen Seite geneigt, so dass das Objekt schwer zu korrigirende wellenförmige Aussenkonturen zeigen kann. Legt man aber sämmtliche Platten vorläufig auf einander, so lässt sich eine völlige Geradheit der Richtfläche ohne weiteres herstellen, eventuell mit Hilfe eines rechten Winkels. Ist dies geschehen, so verlöthe ich den ganzen Stoss oberflächlich durch Durchstechen des Wachsstreifens, der die Definirlinie trägt, mit heissem Spatel und kann jetzt einzelne Partien nach Wunsch von einander trennen, ohne fürchten zu müssen, dass sie später schlecht aufeinander passen.

Von Wichtigkeit ist ferner der Umstand, ob man die Platten mit der Zeichnung nach oben von 1—x oder von x—1 aufeinander legt, da die beiden so entstandenen Modelle Spiegelbilder von einander darstellen. Ebenso erhält man symmetrische Bilder, wenn man z. B. die Schnittrichtung eines Embryos statt von Kopf zu Schwanz von Schwanz zu Kopf nimmt, oder wenn durch Umdrehen des Papiers beim Walzen die Zeichnung nach dem Wachs zu statt nach dem Stein zu liegt.

Im allgemeinen, bei symmetrischen Organen ist dies nicht von Wichtigkeit, doch ist beim Uebersehen dieses Umstandes schon manchesmal zum Erstaunen des Modelleurs z. B. eine Dextrokardie entstanden. Man beachte deshalb, dass der Projektionsapparat ein dem Objekt symmetrisches Bild entwirft — aufrecht oder in der Fläche gedreht, je nachdem man mit oder ohne Okular arbeitet —, dass das Mikroskop aber nur in der Fläche umkehrt. Man lege also die das Spiegelbild tragenden Platten mit der Bildseite nach oben in umgekehrter Reihenfolge aufeinander, als man geschnitten hat. Ist z. B. ein Embryo in der Richtung von Kopf zu Schwanz geschnitten worden, so lege man die Zeichnung der Kopfspitze zu unterst und häufe auf diese die weiter kaudal gelegenen Platten. Man erhält so das Spiegelbild des gezeichneten Spiegelbildes und wird beim Umstülpen des Modells ein richtig gelagertes Abbild des Objektes gewinnen.

Besitzt die Serie keine Definirlinie, ist man genöthigt, nach bereits vorliegenden Schnitten zu rekonstruiren, so nehme man die Medianlinie, bei symmetrischen Gebilden die Aussenkontur, eine Profilzeichnung u. ä. zu Hilfe. Hier ist zur Vermeidung gröberer Verschiebungen doppelt anzurathen, erst die gesammten Platten aufeinander zu schichten, um einen Gesammteindruck von dem Modell zu erhalten; minimale seitliche Verschiebungen oder Drehungen, die beim Aufeinanderlegen zweier Ausschnitte selbst bei Beachtung aller im Objekt befindlichen Merkmale nicht zu vermeiden sind, führen in der Häufung oft zu sichtbaren und so leicht korrigirbaren Abweichungen.

Vollendung des Modells.

Das durch Aufschichten der einzelnen Ausschnitte erhaltene Modell zeigt entsprechend den einzelnen Platten treppenförmige Grenzflächen. Um es dem Objekt ähnlicher zu machen, muss man diese Unebenheiten ausgleichen. Im Princip füllt man mit dem Material der vorstehenden Kanten die Rinnen aus; in praxi wird man dem glättenden Spatel stets etwas Wachs mitgeben müssen.

Gestattet es das zu fertigende Modell — ist es nicht zu komplicirt — so glätte ich es im ganzen ohne Theilzerlegung, da geringe Konturverschiebungen am ehesten auf diese Weise wahrgenommen werden können. Ist dies nicht möglich, so bearbeite man beliebige Partien für sich.

Als Handwerkzeug bediene man sich zungenförmiger und knopfförmiger, verschieden gebogener, an den Rändern nicht schneidender Spatel.

Man verschmelze zusammengehörige Ausschnitte durch Zwischengiessen von heissem Wachs, entfernt die Brücken sobald sie überflüssig geworden sind, bald hier, bald da eine wegschneidend und glätte die »Stufen« mit nicht zu heissem Spatel. Um eine Stelle nicht zu sehr zu erweichen, wechsle man oft in der Arbeit mit verschiedenen Theilen ab. So vereinigt man die einzelnen Tafeln zu einem Ganzen, verkittet für sich bearbeitete Theilstücke mit einander und glättet sie im ganzen. Zuletzt wird die Definirebene entfernt.

Man fürchte nicht, durch das Ausgleichen der Stufen zu viel zu thun; die festen Wachspapierplatten verhindern übergrosse Eingriffe und die entstandenen Fehler übertreffen nie die bei der Fixation, Härtung, Schneiden etc. hervorgebrachten. Modellirt man dünne, flach gegen die Schnittfläche gebogene Platten (Epithelhauben), so kann es vorkommen, dass die Wachsstreifen durch Zwischenräume getrennt sind, da man beim Zeichnen nur den mittleren, dicken Theil der Lamellen wiedergiebt. Dann sieht man sich sogar gezwungen, durch Zugabe von viel Wachs die Lücken auszufüllen.

Während dieser Operationen vereinfachen sich die anfangs unentwirrbar scheinenden Formen sichtlich und schliesslich entsteht ein in einfachen und ruhigen Konturen so klar aussehendes Modell, dass man sich oft wundert, wie man an der Rekonstruktion aus der Serie »im Kopfe« scheitern konnte!

Schliesslich kann man das fertige Modell noch im ganzen glätten, indem man es mit breitem heissen Spatel oder mit terpentingetränktem Pinsel bearbeitet, durch die Bunsenflamme zieht u. ä. m. Je einfacher es aussieht, desto mehr giebt es die Form des Objekts wieder und desto mehr erleichtert es das Studium, das nicht durch unwesentliche zufällige Unebenheiten abgelenkt wird.

Ein Anstrich des Modells ist sehr zu empfehlen, da die durch die Platten hervorgerufene Streifung oft störend wirkt. Tempera- sowie Oelfarben haften beide auf dem Wachs.

Oft ist es nicht rathsam, das Modell zu einem einheitlichen Ganzen zu verschmelzen, wenn man einige der Schnittflächen zur Anschauung bringen will. Dies lässt sich aber auch später noch erreichen, indem man das Modell in beliebigen Richtungen in Stücke zerlegt, die ja leicht wieder aneinander gesetzt werden können. Bei Hohlorganen schneide man Fenster aus den Wänden, um Einsicht in die Binnenräume zu gewinnen. All dies kann mit dünnen heissen Messern, mittels einer mit Terpentin gefärbten Visitenkarte, mit Seidenfaden oder Drähten geschehen.

Sind einige Stücke nicht oder nicht fest genug mit einander verbunden, so ersetze man die zuletzt entfernten Brücken durch Drähte, deren heissgemachte Enden in bestimmte Stellen der Wachswände gebohrt werden. Auch kann man einzelne Theile herausnehmbar und wieder einfügbar ge-

stalten. Meist leisten hier eingeschmolzene Nadeln oder Nägel, die aus einer Schnittfläche herausstehend in eine Vertiefung der gegenüberliegenden passen, den nöthigen Dienst des Zusammenhaltens. Eleganter ist es, an Stelle dieser Löcher Messingröhrchen zu benützen, Fenster durch federnde Angeln zu befestigen und was dergleichen Sachen mehr sind.

Schaper's Methode.

Eine Modifikation des Born'schen Verfahrens hat Schaper angegeben. Er umgeht die Herstellung von Definirlinien ganz und benutzt zur Orientirung die aus Pappe herausgeschnittene entsprechend vergrösserte Profilkontur des Embryo oder einzelner Theile desselben als »Lehre«, in welche er die ausgeschnittenen Wachsplatten einpasst. Zwei in der Medianlinie der Schnitte gelegene Marken. die eine in der medianen Rückenlinie, die andere etwa an der ventralen Kommissur des Rückenmarks — Rückenpunkt und Medianpunkt — sind mit den zu modellirenden Organen beim Ausschneiden der Platten durch Brücken verbunden worden. Diese Punkte fallen beim Einpassen der Platten aufeinander in die Ebene der Lehre, der erstere direkt an die Profilkontur, der andere ventral davon und gestatten ein richtiges Orientiren, das durch die Angabe der Schnittrichtung, welche senkrecht zur medianen stehen muss und früher festgestellt wurde, völlig exakt wird.

Diese Methode verlangt also eine genaue Profilzeichnung des Objekts und leistet bei geraden Embryonen, die eine nicht gekrümmte Mediankontur besitzen, Vortreffliches. Sie empfiehlt sich für grosse Organe, z. B. Gehirne, die aus praktischen Gründen ein Einschliessen in die Definirkammer nicht gestatten. Doch ist sie verschiedenen Einschränkungen unterworfen. Die meisten Embryonen sind gewunden und besitzen keine gerade Rückenkontur, die herausgeschnittenen Organen völlig fehlt; auch wird es Schwierigkeiten haben, wenn man keine Schnitte opfern will, das Objekt genau senkrecht zur Mittelebene zu schneiden.

Von Plattenmodellirmethoden, die anderes Material als Wachs verwenden, sei hier noch zweier Erwähnung gethan.

Selenka's Verfahren des Metallausgiessens.

Selenka zeichnet die Schnitte auf Papier und lässt dies vom Buchbinder auf Pappdeckel von bestimmter Dicke aufkleben. Derselbe schneidet auch die zu rekonstruirenden Theile aus der Pappe heraus, so dass jede Tafel ein Negativ der zu modellirenden Partien darstellt.

Diese Scheiben klebt Selenka aufeinander und giesst die Hohlräume mit Wood'schem Metall aus. Den Metallkern, einen positiven Abguss des Organs in bestimmter Vergrösserung, erhält er durch Aufweichen der Pappe in Wasser. Das Modell kann zersägt und mit heissem Spatel geglättet werden.

Natürlich versagt diese Methode bei einigermassen komplicirten Verhältnissen, da die angegebenen Hilfsmittel, alle auszugiessenden Räume, die eventuell isolirt liegen, durch herausgeschnittene Kanäle zu verbinden, doch nur in beschränktem Masse anwendbar sind.

His' Plattenverfahren.

His hat ausser Wachsplatten auch solche von Kork oder Blech verwandt. Letzteres gab ihm auf folgendem Wege gute Resultate.

Er benutzte die vergrösserte Profilzeichnung als Medianebene und nagelte in bestimmten Abständen auf dieselbe Zinkbleche auf, welche die Form des halben Schnittes besassen. Die Lücken füllte er mit Thon aus. So erhielt er die Hälfte eines nicht zu komplicirten symmetrischen Organes (Gehirn).

Doch werden alle diese Methoden von der Born'schen Wachsplattenmethode an Leistungsfähigkeit weit übertroffen.

Litteratur: G. Alexander (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), derselbe (ebenda, Bd. 15, 1898), G. Born (Morph. Jahrb., Bd. 11, 1876), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 22, 1883), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), derselbe (Rekonstruktionsmethoden, Taschenbuch

d. mikr. Technik von Böhm & Oppel, 4. Aufl., München 1900), G. Born und K. Peter (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), J. Bromann (Anat. Hefte, XI, 1899), A. Éternod (ebenda, Bd. 15, 1898), W. His (Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbelthierleibes, Leipzig 1868), derselbe (Anatomie menschlicher Embryonen, Leipzig 1880—85), derselbe (Anat. Anz., Bd. 2, 1887), P. Th. Justesen (Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1900), N. Kaschtschenko (Arch. Anat., 1886), derselbe (Die graphische Isolirung bei mittleren Vergrösserungen, Anat. Anz., Bd. 2, 1887), derselbe (ebenda), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), derselbe (ebenda, Bd. 5, 1888), F. Keibel (ebenda, Bd. 11, 1894), Krieger (Zool. Anz., 1878), L. Neumayer (Festschrift f. Kupffer, 1899), K. Peter (Morph. Jahrb., Bd. 25, 1898), Derselbe. (Verh. anat. Ges. Tübingen 1899), P. Schaffer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1900), A. Schaper (ebenda, Bd. 13, 1897), E. Selenka (Sitz. phys.-med. Soc., Erlangen 1886), H. Strasser (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), derselbe (ebenda, Bd. 4, 1887), derselbe (Anat. Anz., Bd. 2, 1887), B. Suzuki (Anat. Anz., Bd. 14, 1898), G. C. Vosmaer (Ebenda, Bd. 16, 1899), F. T. Wilson (ebenda, Bd. 17, 1901), W. Woodworth (ebenda, Bd. 14, 1897).

Nicht aufgenommen sind in obiges Verzeichniss die nur indirekt hierher gehörigen Arbeiten über Orientirung kleiner Objekte (Patten, Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894; Woodworth, ibid.; Hoffmann, ibid., Bd. 15 u. 17, 1898 u. 1901; Noack, ibid., Bd. 15, 1898; Jordan, ibid., Bd. 16, 1900; Drew, Zool. Anz., Bd. 3. 1900), und die in wissenschaftlichen Arbeiten gelegentlich gemachten Angaben über »Pauskombination« (Froriep, Arch. Anat. Phys., 1882; Dohrn, Mitth. d. Stat. zu Neapel, Bd. 6, 1885; K. Schaffer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890); Stöhr (Zeit. wiss. Zool., Bd. 33, 1879). *Peter*, Breslau.

Platinchlorid, Platinchlorwasserstoffsäure, H_2PtCl_6, bildet braunrothe, in Wasser sehr leicht mit tiefgelber Farbe lösliche Krystalle. Am besten hält man sich eine 10%ige Lösung in einer dunklen Flasche vorräthig. Dünnere Lösungen (½%) kann man getrost bei Lichtzutritt aufbewahren. Im allgemeinen wird Platinchlorid mit Vorliebe für zarte Objekte, wie die Retina, für deren Fixation es im Gemisch mit Chromsäure 1870 von Merkel in die Technik eingeführt wurde, Keimscheiben, junge Embryonen (Olt), und feine Untersuchungen, zumal über Kernstruktur, heute jedoch fast nur noch in seinen Gemischen benutzt.

Für sich allein fixirt die etwa ⅓%ige Lösung in 12—24 Stunden kleine Stücke gut durch. So verwendet Rabl die ¼—⅓%ige Lösung in der Wärme 3—24 Stunden lang für Salamanderlarven. Die ⅓%ige Lösung benützen ferner Holl für die Retina, die Geschmacksorgane, die Untersuchung der Eireifung beim Hühnchen, Retterer für Knorpel und retikulirtes Gewebe, Hamann für das sich theilende Acanthocephalenei. Mann empfiehlt es für die Nervenzellen in ½—¼%iger Lösung. Für feine Untersuchungen, Mitosen, benutzt Rabl noch schwächere Lösungen von $^1/_{10}$—⅛% für 24 Stunden. Die Präparate sind aber nicht haltbar. In dieser Stärke empfiehlt es Felix für Hühnerembryonen, findet aber dabei beeinträchtigte Färbbarkeit. Noch geringere Koncentrationen benutzt Munson für das Ei und Ovar von Limulus, nämlich eine nur $^1/_{40}$%ige Lösung 24—48 Stunden lang.

Die Nachbehandlung erfordert sehr sorgfältiges Auswaschen mit Wasser, dann folgt die Entwässerung mit Alkohol. Vereinzelt wurden auch wohl ganz zarte dünne Objekte, die nur kurze Zeit mit Platinchlorid in Berührung waren, direkt in den Alkohol übertragen.

Nach Fischer fällt das Platinchlorid in 5%iger Lösung alle von ihm untersuchten Eiweisskörper, nur das Pepton in unvollkommener Weise. Löwit findet in den Leukoblasten das Nukleolin oder Pyrenin schlechter durch 0,1—0,3%iges Platinchlorid fixirt, als in den Erythroblasten, Marques sieht durch Platinchlorid das Hämoglobin im Amphibienknochenmark nicht natürlich erhalten; auch nach Löwit wird das Hämoglobin bei Platinchloridfixation extrahirt. Wasielewski findet durch 10%iges Platinchlorid das Protoplasma der Pflanzenzelle netzig, aber nicht geschrumpft; es scheint ein Theil des Cystoplasmas gelöst zu werden. Dagegen lieferte es vorzügliche Bilder und Färbbarkeit des Kinoplasmas. Eisen erwähnt ebenfalls, dass Platinchlorid das Plasma ruinire. Im allgemeinen findet man auch angegeben, dass das Chromatin ein wenig schrumpfe. Einiger Worte bedarf die Be-

deutung der Platinchloridfixation und des Platinchloridgehalts der Gemische für die Färbbarkeit der Präparate. FISCHER stellt es zu den totalen Farbfeinden, d. h. auch die geringsten auswaschbaren Spuren erschweren die Färbung noch merklich. Auf solche Reste dürften wohl die mannigfachen Angaben über schlechte Färbbarkeit der Platinchloridpräparate zurückgehen. Dem gegenüber muss aber darauf hingewiesen werden, dass gründlich ausgewaschene Präparate ganz vorzügliche Färbungen geben, besonders vom Chromatin. Viele Gemische verdanken geradezu die leichte und brillante Färbbarkeit der Präparate ihrem Platinchloridgehalt, sofern die Objekte hinreichend lange gewässert werden.

Platinchloridgemische:

Platinchlorid mit Essigsäure oder Ameisensäure: R. KRAUSE benützt für Kaninchen- und Schweinsembryonen ein Gemisch von 0,2 Th. Essigsäure auf 100 Th. 1%iger Platinchloridlösung und findet die Färbbarkeit der so fixirten Präparate sehr gut. LAVDOWSKY empfiehlt für die Darstellung von Kernstrukturen 15—30 Th. 1%iges Platinchlorid mit $1/2$—1 Th. Essig- oder Ameisensäure.

Platinchlorid, Essigsäure und Formol vereinigt RETTERER für Ossifikationspräparate u. a.: er fixirt 6—12 Stunden lang in je 50 Th. 5%iger Platinchloridlösung und Formol und 3 Th. Essigsäure. Nachbehandlung: Auswaschen, Entwässern.

Platinchlorid, Essigsäure, Formol und Pikrinsäure giebt LONGO als modificirtes BOUIN'sches Gemisch (s. pag. 402) an: 20 Th. 1%iges Platinchlorid, 20 Th. koncentrirte wässerige Pikrinsäure, 10 Th. Formol, 5 Th. Essigsäure. Er empfiehlt diese Lösung für Chromatolysestudien am Pflanzenzellenkern.

Platinchlorid, Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Essigsäure oder Ameisensäure s. pag. 1061.

Platinchlorid und Chromsäure s. pag. 139.

Platinchlorid, Chromsäure, Essigsäure s. pag. 139.

Platinchlorid, Essigsäure, Alkohol s. pag. 24.

Platinchlorid, Iridiumchlorid und Essigsäure s. pag. 627.

Platinchlorid mit Pikrinsäure und Essigsäure s. pag. 1108.

Platinchlorid mit Pikrinsäure, Essigsäure und Osmiumsäure s. pag. 1108.

Platinchlorid, Osmiumsäure, Essigsäure, Sublimat s. pag. 1062.

Platinchlorid, Osmiumsäure, Essigsäure und Chromsäure s. pag. 1060.

Platinchlorid, Osmiumsäure, Chromsäure und Ameisensäure s. pag. 1060.

Platinchlorid mit Sublimat s. Sublimat.

Platinchlorid und einige seiner Gemische, z. B. das MERKEL'sche Platinchlorid-Chromsäuregemisch, sind zuweilen im zweifachen Verfahren zur Verhinderung des Nachschwärzens der Osmiumpräparate benutzt worden: so empfiehlt BERGH $1/3$%ige Lösung zur Nachbehandlung von Lumbricuseiern, die wenige Minuten mit FLEMMING'scher Flüssigkeit fixirt worden waren, auf etwa 2—3mal so lange Zeit; MUNSON das gleiche Verfahren für das Ei von Limulus (siehe auch unter Osmiumsäure pag. 1048).

Litteratur: MERKEL (Macula lutea, 1870, pag. 19), OLT (Zeit. wiss. Zool., Bd. 55, 1993), RABL (Morph. Jahrb., Bd. 12, 1886), HOLL (Sitz. Ak. Wien, 3. Abth., Bd. 92, 1885; Bd. 95, 1887; Bd. 99, 1890), RETTERER (C. R. Soc. Biol. 1899, Bd. 51), HAMANN (Jen. Zeit. Naturw., Bd. 25, 1890), MANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), RABL (Morph. Jahrb., Bd. 10, 1884; Anat. Anz., Bd. 4, 1889), FELIX (Festschr. NÄGELI-KÖLLIKER, 1891), MUNSON (Journ. of Morph., Bd. 15, 1898), FISCHER (Protoplasma etc., 1899, pag. 24), LÖWIT (Anat. Anz., Bd. 6, 1891; Arch. mikr. Anat., Bd. 38, 1891), MARQUES (Inaug.-Diss. Dorpat 1892), v. WASIELEWSKI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), EISEN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), FISCHER

(Protoplasma 1899, pag. 85), R. Krause (Arch. mikr. Anat., Bd. 35, 1890), Lavdowsky (Anat. Hefte, Bd. 4, 1897), Longo (Ann. R. Ist. Botan. d. Roma, Bd. 9, 1899), Retterer (Journ. Anat. Phys., 36. Jahrg., 1900), Bergh (Zeit. wiss. Zool., Bd. 50, 1890), Munson (Journ. of Morph., Bd. 15, 1898).

Poll, Berlin.

Platinchlorid-Essig-Osmiumsäure. Dieses Gemisch ward von Fr. Hermann angegeben und ist nach Analogie der starken Flemming'schen Flüssigkeit in der Weise zusammengesetzt, dass die 1%ige Chromsäure durch eine 1%ige Platinchloridlösung ersetzt ist. Das Präparat, das im Handel unter dem Namen Platinchlorid geht, ist Platinchlorwasserstoffsäure, H_2PtCl_6, nicht $PtCl_4$. Diese sehr hygroskopische, an der Luft zerfliessliche Säure bildet u. a. mit organischen Basen sehr schwer lösliche Verbindungen, eine Eigenschaft, die für ihre Wirksamkeit als Fixirungsflüssigkeit gewiss von Bedeutung ist. Diese Platinchlorwasserstoffsäure hat seinerzeit Hermann zur Herstellung seines Gemisches verwendet, und, da nirgends auf den Unterschied zwischen dem sogenannten Platinchlorid des Handels und dem eigentlichen $PtCl_4$ hingewiesen wird, ist wohl anzunehmen, dass diese Säure es ist, auf die sich allgemein die Untersuchungen über die Wirkungsweise des »Platinchlorids« beziehen.

Die Hermann'sche Flüssigkeit besteht also aus 15 Theilen 1%iger Platinchlorwasserstoffsäurelösung, 4 Theilen einer 2%igen Osmiumtetroxydlösung und 1 Theil Eisessig. Für Salamandra (Kaltblüter) hat Hermann seinerzeit empfohlen, nur halb so viel Osmiumsäurelösung zu nehmen. Da Platinchlorid nach A. Fischer's Untersuchungen ein absolut farbenfeindlicher Stoff ist, müssen mit dem Gemisch fixirte Objekte gründlich ausgewaschen werden, was umso unbedenklicher geschehen kann, als das Gemisch mit allen in Betracht kommenden Stoffen im Wasser unlösliche Fällungen liefert.

Das Hermann'sche Gemisch ist allseitig als ein ausgezeichnetes Fixirungsmittel, sowohl für den Zellenleib wie für den Kern, befunden worden. Seine Vorzüge verdankt es grossentheils der Osmiumsäure, theilt aber naturgemäss auch mit anderen Osmiumgemengen die Nachtheile des langsamen Eindringens und der Zonenwirkung. Es empfiehlt sich daher, nur kleine Stücke der Gewebe in das Gemisch zu bringen, mit derberen Grenzschichten versehene, wenn ein Aufschneiden derselben nicht angängig ist, um die Lagebeziehungen der Elemente nicht zu stören, mit einer feinen Nadel vielfach anzustechen.

In der Flüssigkeit können die Objekte Stunden bis Wochen, auch Monate verweilen, ohne für manche Färbungen (Holzessig, Safranin) untauglich zu werden, indess werden sie mit der Zeit sehr mürbe.

Während das Gemisch den Zellenleib nach Tellyesnicky's Untersuchungen ebenso gut fixirt, wie das Flemming'sche, liefert es, weil die Chromsäurewirkung fortfällt, vielfach klarere Bilder der Kernstruktur. Besonders schön gelangen die achromatischen Elemente der Zelltheilungsfiguren zur Darstellung, sowohl bei Thier- wie b i Pflanzenzellen.

Mit dem Hermann'schen Gemisch fixirtes Material kann durch rohen (möglichst unreinen, schmierigen) Holzessig im Stück gefärbt werden und liefert mit Safranin-Gentiana-Orange sehr schöne Bilder, ebenso mit der kapriciösen von F. Hermann angegebenen Färbung mit Anilin-Safranin und Gentiana. Eine Färbung der Stücke nicht zu alten Materials mit Alaun-Cochenille oder Cochenille-Eisenalaun liefert ausgezeichnete Resultate und die reizende Benda-M. Heidenhain'sche Eisenhämatoxylinfärbung lässt sich schön an so fixirtem Material vornehmen. Auch andere Hämatoxylin- und Karminfärbungen geben bei frischem Material brauchbare Resultate, entschieden bessere als bei mit Flemming'scher Flüssigkeit konservirtem. Für Untersuchungen der mesenchymatischen Gewebe scheint es mir vortheilhaft, etwas weniger als die angegebenen 5% Eisessig zu verwenden, etwa 1—3%.

Litteratur: F. Hermann (Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. 1893, Bd. 2, pag. 2). A. Fischer (Fixirung, Färb. u. Bau d. Protopl. Jena 1899). Tellyesnicky (Arch. mikr. Anat. 1898, Bd. 52). W. v. Wasielewski (Zeitschr. wiss. Mikr. 1899, Bd. 16).

Spuler, Erlangen.

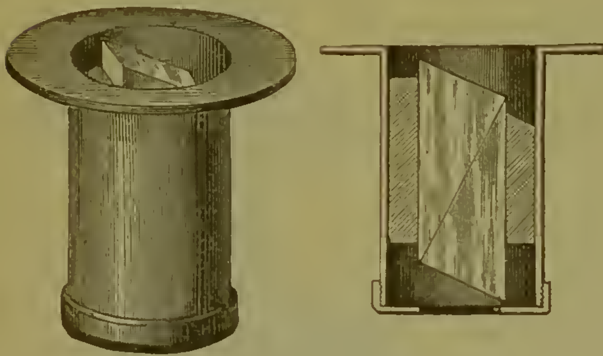
Platinchlorür, $PtCl_2$. Bei manchen Autoren findet man die Angabe, dass sie zur Fixation Platinchlorür verwenden. Es ist das jedenfalls eine irrthümliche Angabe, da dieses Salz weder in Wasser noch in Alkohol, sondern nur in heisser Salzsäure löslich ist. Es wird sich wohl in allen diesen Fällen um das Chlorid, d. h. Platinchlorwasserstoffsäure handeln.

Plattenkompressorium, siehe Experimentell-embryologische Methoden.

Poirier's Blau, ein alkohollösliches Anilinblau französischer Provenienz.

Polarisationsmikroskop. Zusammengesetztes Mikroskop mit Polarisationseinrichtung, zur Untersuchung der Doppelbrechung (Anisotropie) mikroskopischer Objekte. Nicht zu verwechseln mit dem in der Mineralogie und Physik verwendeten Nörrenberg'schen Polarisationsmikroskope, welches zur Darstellung der Interferenzfarben-Ringsysteme von dünnen oder schwach lichtbrechenden Krystallplatten in konvergentem Lichte dient. Die Polarisationseinrichtung des gewöhnlichen, zu histologischen Zwecken verwendeten Polarisationsmikroskopes besteht im wesentlichen aus einem unter dem Objekttische angebrachten Polarisator und einem gewöhnlich am Okulare angebrachten Analysator. Als Polarisator dient ein Nicol'sches Prisma, dessen Fassung entweder in die Schiebhülse einer Cylinderblendung eingeschoben oder mittels eines tellerförmigen Ansatzes in den Diaphragmenträger des Kondensors eingehängt wird (Fig. 115). Im ersten Falle wird am oberen Ende der Fassung gerne eine kleine halbkugelige Kondensorlinse angebracht, deren plane Frontfläche in die Objekttischebene zu liegen kommt. Im zweiten Falle können über dem Nicol noch die gewöhnlichen Diaphragmen, sowie Gyps- oder Glimmerplättchen eingelegt werden. Als Analysatorprisma wird, der geringeren Länge und des grösseren Gesichtsfeldes wegen, gewöhnlich ein Hartnack-Prazmowski'sches Prisma verwendet, welches drehbar in einer Hülse mit eine Gradtheilung tragendem Theilkreise und Zeiger über der Okularlinse des Okulares (nach Talbot) und gewöhnlich mit diesem drehbar angebracht ist (Fig. 116). In dem Analysatorokulare ist öfter, die Schwingungsebene des Analysators bezeichnend, ein einfacher Faden oder aber ein Fadenkreuz angebracht. Diese können mit dem Theilkreise des Okulares leicht auch zu Winkelmessungen an mikroskopischen Objekten (Krystallen) benützt werden. In dem Analysatorokulare von Abbe ist der eigenthümliche (s. u.) Analysator zwischen Okular- und Kollektivlinse unmittelbar über der Blendung im Okulare angebracht. Hiedurch wird die bei der Talbot'schen Anordnung mehr minder starke Einschränkung des Sehfeldes vermieden.

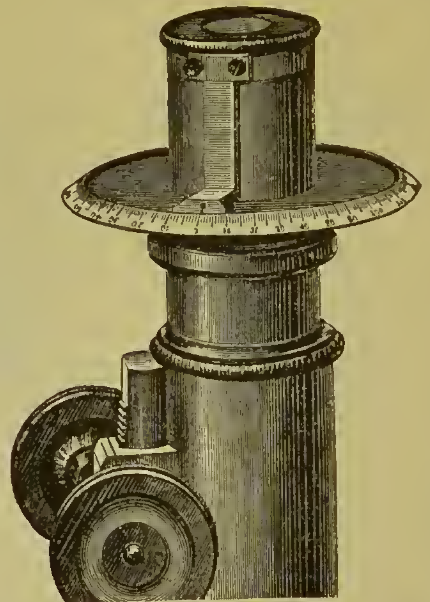
Fig. 115.



Das Nicol'sche Prisma ist bekanntlich aus einem reinen Doppelspath Rhomboeder durch Abspalten eines etwa $3^1/_4$mal so langen als dicken

prismatischen Stückes hergestellt, das weiters in folgender Weise behandelt wird: Die Neigung der Endflächen gegen die Seitenkanten wird durch Abschleifen von 72° auf 68° gebracht und sodann das Prisma durch einen Schnitt, welcher auf den Endflächen und der Ebene der Längsaxe und krystallographischen Hauptaxe senkrecht steht, in zwei Hälften zerlegt. Nachdem die so entstandenen Schnittflächen polirt worden sind, werden die beiden Theile wieder in ihrer früheren Lage mit Kanadabalsam vom Brechungsexponenten 1,548 zusammengekittet. Durch diese Anordnung wird erreicht, dass der in dem negativ doppeltbrechenden Kalkspathe stärker abgelenkte ordinäre Strahl unter einem grösseren als dem Grenzwinkel auf die Kanadabalsamschichte auftrifft und somit daselbst total reflektirt und seitlich abgelenkt wird, während am anderen Ende des Prismas nur der im Hauptschnitte (Ebene der kurzen Diagonalen der Endrhomben des Prismas) schwingende extraordinäre Strahl in der Richtung des eingetretenen Strahles weitergeht. Solche Prismen geben eine mittlere Zone polarisirten Lichtes von etwa 29° Ausdehnung, deren Mitte jedoch excentrisch gelegen ist.

Fig. 116.



Bei dem sogenannten verkürzten Nicol'schen Prisma von Steeg und Reuter werden die Neigungswinkel der Endflächen nicht abgeschliffen und ist die Schnittfläche gegen jene um 84° geneigt. Als Kitt wird ein Harz vom Brechungsexponenten 1,5 (Kopaivabalsam) verwendet. Die Grösse des Gesichtsfeldes beträgt etwa 24°, das Verhältniss der Länge zur Dicke des Prismas ist 2,83.

Bei dem Nicol'schen Prisma mit geraden Endflächen derselben Firma sind die Endflächen senkrecht zu den Seitenkanten angeschliffen und die Schnittfläche ist unter 75° gegen jene geneigt. Der Kitt ist vom Brechungsexponenten 1,525. Das Gesichtsfeld hat eine symmetrische Lage und eine Oeffnung von 27°, das Verhältniss der Länge zur Dicke des Prismas ist 3,75.

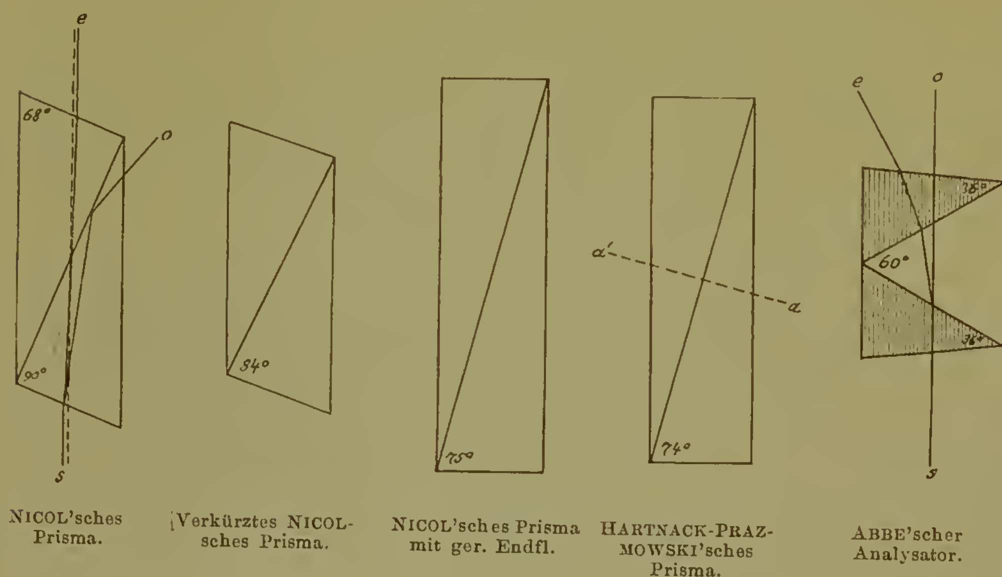
Das Hartnack-Prazmowski'sche Prisma ist das für Analysatorokulare meist verwendete. Die Schnittfläche ist senkrecht zur krystallographischen Hauptaxe des Doppelspath-Rhomboeders angelegt und die beiden Endflächen stehen senkrecht auf der Längsaxe des Prismas. Die beiden Hälften sind mit Leinöl zusammengekittet. Der Oeffnungswinkel kann bei längeren solchen Prismen bis über 41° gebracht werden. Gewöhnlich begnügt man sich mit einer polarisirten Zone von 35° Grad Oeffnung, wobei der Neigungswinkel der Schnittfläche gegen die Endflächen 74° und das Verhältniss der Länge zur Dicke 3,51 beträgt, oder mit noch kürzeren Prismen. Die polarisirte Zone ist nicht ganz gleichmässig zur Längsaxe gelagert.

Der Analysator des Abbe'schen Analysatorokulares besteht aus einer Kombination eines Doppelspathprismas von 60° mit zwei symmetrisch angekitteten leichten Flintglasprismen von je ca. 36°. Durch diese passend gewählte Kombination wird erreicht, dass der ordentliche Strahl ohne Ablenkung und Dispersion gerade hindurchtritt, während der ausserordentliche stark seitlich abgelenkt wird und unter Verwendung des als Diaphragma angebrachten Okulardeckels nicht mehr ins Auge des Beobachters

gelangt. In Fig. 117 sind die besprochenen Prismentypen in Längsschnitten dargestellt. —

Kaum minder wichtig für die praktische Verwendung des Polarisationsmikroskopes als der optische Theil ist als mechanischer Theil der drehbare Objekttisch zum Auflegen und Drehen der Präparate um die optische Axe des Mikroskopes zwischen den in bestimmter Stellung orientirten feststehenden Nicols (Polarisator und Analysator). An den grossen mineralogischen Stativen ist zu diesem Zwecke ausnahmslos ein drehbarer, mit Theilkreis versehener Objekttisch angebracht, oder es können auch die in bestimmte Stellungen zu einander gebrachten beiden Nicols gleichzeitig in gleichem Sinne gemeinsam gedreht werden. Bei den gewöhnlich für histologische Untersuchungen verwendeten grösseren Instrumenten ist oft der ganze Obertheil des Mikroskopes auf dem Fusse und über dem Beleuchtungsapparate um die optische Axe drehbar. Ist auch diese Einrichtung nicht vorhanden, dann muss man sich mit einfachen drehbaren Objekttischeinsätzen behelfen oder im Nothfalle — bei schwachen Vergrösserungen —

Fig. 117.



NICOL'sches Prisma. | Verkürztes NICOL-sches Prisma. | NICOL'sches Prisma mit ger. Endfl. | HARTNACK-PRAZMOWSKI'sches Prisma. | ABBE'scher Analysator.

s eintretender, *o* ordinärer, *e* extraordinärer Strahl. *a—a'* krystallogr. Hauptaxe des Doppelspathes.

die Drehung aus freier Hand versuchen oder — ganz darauf verzichten. Die drehbaren Einsätze, welche auf den Objekttisch aufgesteckt werden, sind meist recht mangelhaft centrirt, was schon bei mittelstarken Vergrösserungen sehr unangenehm bemerkbar wird, auch ist die Fixirung des Objektträgers meist sehr unvollkommen oder gar nicht möglich. Wo hingegen der ganze Obertheil des Mikroskopes um die optische Axe drehbar ist, lässt sich eine sehr vollkommene Einrichtung zur Drehung des Präparates im Kreise zwischen den feststehenden orientirten Nicols mit Beibehaltung genauester Centrirung bei allen Vergrösserungen in folgender, zuerst von ROLLETT zu histologischen Zwecken verwendeter Weise ausführen: Ein Analysatorprisma in Fassung wird an dem horizontalen Arme eines besonderen Statives, das auch mit dem Fusse des Mikroskopes verbunden sein kann, knapp über dem Okulare des Mikroskopes frei gehalten. Dieser Arm ist seitlich auslegbar und für verschieden hohe Einstellungen des Tubus in der Höhe verstellbar. Der Polarisator ist in den Blendungsträger des Beleuchtungsapparates eingesetzt: somit kann jetzt der ganze Obertheil des Mikroskopes, Objekttisch mit Präparat, Tubus mit Objektiv und Okular in vollständig

unverändert bleibender Centrirung zwischen den in bestimmter Weise eingestellten NICOL'schen Prismen im Kreise um die optische Axe des Mikroskopes gedreht werden. Durch Anbringung eines Theilkreises unter dem Objekttische und eines Zeigers an diesem kann die Einrichtung vervollständigt werden. ROLLETT hat zur Abstufung der Helligkeit des einfallenden Lichtes unter dem Polarisator noch ein zweites NICOL'sches Prisma angebracht. Die erwähnte Einrichtung ist für feinere Untersuchungen mit dem Polarisationsmikroskope, namentlich unter Verwendung stärkerer Vergrösserungen, ausserordentlich zu empfehlen, und ROLLETT hat schon vorgeschlagen, in Hinkunft die Polarisationsapparate für die Mikroskope nach den angeführten Grundsätzen zu bauen. Auf Anregung EBNER's hat dann A. FROMME in Wien eine sehr vollkommene und zweckmässige derartige Einrichtung ausgeführt.

Für feinere Untersuchungen (s. u. und »Technik der Untersuchung thierischer Gewebe im polarisirten Lichte«) mit Hilfe der Interferenzfarben dünner, sogenannter »verzögernder« Gyps- oder Glimmerplättchen bedarf man endlich noch einiger solcher zum Einlegen zwischen Polarisator und Objekt, entweder in den Blendungsträger des Beleuchtungsapparates, oder in die Fassung des Polarisators oder endlich in den Untertheil des drehbaren Objekttischeinsatzes. Eine Sammlung von vier Gypsplättchen, welche bei gekreuzten Nicols Roth I. bis IV. Ordnung geben, und von vier Glimmerplättchen verschiedener Helligkeit ist von MOHL zusammengestellt worden und wird von den optischen Werkstätten billig geliefert. Mit zwei parallel den optischen Axen gespaltenen Gypsplättchen von 0,05 und von 0,10 Mm. Dicke, welche bei gekreuzten Nicols Roth I. und II. Ordnung geben, wird man für die meisten Untersuchungen völlig ausreichen.

Wirkungsweise des Polarisationsmikroskops. Bekanntlich sind die durch die Doppelbrechung aus einem eingetretenen Strahlenbündel im Kalkspathe entstandenen beiden Strahlenbündel linear und entgegengesetzt polarisirt: Die Schwingungen der Aethertheilchen finden für die Fortpflanzung der extraordinären (eo) Strahlen im »Hauptschnitte« (Ebene durch die Richtung des Strahles parallel der optischen Axe des Krystalles), für die Fortpflanzung der ordinären (o) Strahlen rechtwinklig dazu statt. Aus dem Polarisator gelangt nur ungefähr die Hälfte des eingedrungenen Lichtes in derselben Richtung weiter, da der ordinäre Strahl durch die totale Reflexion an der Kanadabalsamschichte des Prismas seitlich abgelenkt wird. Steht der Analysator so, dass die Schwingungsebene seines extraordinären Strahles der Schwingungsebene des vom Polarisator kommenden Lichtes genau parallel gerichtet ist (»parallele Nicols«), so wird dieses vollkommen hindurchgelassen: das Gesichtsfeld erscheint im Maximum der Helligkeit. Wird der Analysator (oder Polarisator) von dieser Stellung aus um 90° gedreht (»gekreuzte Nicols«), so dass die Schwingungsebene seines ordinären Strahles der Schwingungsebene des vom Polarisator kommenden Lichtes parallel ist, so wird dieses im Sinne des ordinären Strahles des Analysators gebrochen und total seitlich reflektirt: das Gesichtsfeld erscheint im Maximum der Dunkelheit. In Zwischenstellungen, in denen die Schwingungsebenen der (hindurchgelassenen) extraordinären Strahlen beider Nicols (Schwingungsebenen der Nicols) einen beliebigen Winkel α mit einander bilden, wird ein Theil des Lichtes hindurchgelassen, ein Theil total reflektirt und zwar ist in jeder Stellung die Intensität des hindurchgelassenen Lichtes $I_1 = I . \cos \alpha$. — Aus der Theorie ergiebt sich weiter leicht Folgendes:

Wird ein doppeltbrechender Körper zwischen die gekreuzten NICOL'schen Prismen gebracht (gewöhnliche einfache Untersuchung auf Doppelbrechung), so erscheint derselbe bei Verwendung von weissem Lichte zur

Beleuchtung im allgemeinen im dunklen Sehfelde im Maximum der Helligkeit, wenn die (auf einander senkrechten) Schwingungsebenen der beiden in ihm durch die Doppelbrechung gebildeten Strahlen unter Winkeln von 45° zu den (auf einander senkrechten) Schwingungsebenen der beiden Nicols stehen; hingegen erscheint der Körper im dunklen Sehfelde im Maximum seiner Dunkelheit, wenn die Richtungen der Schwingungsebene der beiden in ihm durch die Doppelbrechung gebildeten Strahlen mit den Richtungen der Schwingungsebenen der beiden Nicols zusammenfallen: Ein doppeltbrechender Körper muss daher, zwischen den gekreuzten Nicol'schen Prismen einmal im Kreise um 360° gedreht, bei je um 45° von einander verschiedenen Stellungen abwechselnd viermal hell und viermal dunkel erscheinen. In den Zwischenstellungen finden alle Uebergänge vom Maximum der Helligkeit zum Maximum der Dunkelheit statt. Nur wenn der Körper so auf dem Objektträger liegt, dass hiebei die Richtung einer optischen Axe in die Richtung der Axe des Mikroskopes fällt, erscheint auch ein doppeltbrechender Körper wie eine isotrope Substanz: in allen Azimuthen dunkel (s. auch »Technik d. Unters. etc.«).

Da die beiden durch die Doppelbrechung in einem doppeltbrechenden Körper entstandenen Strahlen denselben mit verschiedener Geschwindigkeit durchlaufen, entsteht zwischen ihnen ein von der Dicke des Körpers und der Wellenlänge des Lichtes abhängiger Gangunterschied, welcher, sobald die beiden Strahlen durch die Wirkung des Analysators zur Interferenz kommen, bei Verwendung von weissem Lichte zur Entstehung von Interferenzfarben Anlass geben muss; und zwar erscheint jede bestimmte Wellenlänge (oder Farbe des Spektrums) bei gekreuzten Nicols und einem Azimuth von 45° der Schwingungsebenen des Körpers gegen die der Nicols im Maximum der Helligkeit, wenn der eine der durch die Doppelbrechung entstandenen Strahlen dem anderen um ein ungerades Vielfaches einer halben Wellenlänge vorausgeeilt ist, hingegen im Maximum der Dunkelheit, wenn der eine dem anderen um ein gerades Vielfaches einer halben Wellenlänge vorausgeeilt ist.

Bei parallelen Nicols und einem Azimuth von 45° der Schwingungsebenen des doppeltbrechenden Körpers gegen die der Nicols erscheint umgekehrt jede bestimmte Wellenlänge im Maximum der Helligkeit, wenn der eine der beiden Strahlen dem anderen um ein gerades Vielfaches einer halben Wellenlänge vorausgeeilt ist, hingegen im Maximum der Dunkelheit, wenn der eine dem anderen um ein ungerades Vielfaches der halben Wellenlänge vorausgeeilt ist. Die Interferenzfarben erreichen die Maxima ihrer Intensität (bei gekreuzten Nicols) und Sättigung (bei parallelen Nicols), wenn die Schwingungsebenen der im anisotropen Körper entstandenen beiden Strahlen mit denen der Nicols Winkel von 45° einschliessen. Aus dem Gesagten folgt, dass die bei gekreuzten Nicols entstehende Interferenzfarbe der bei parallelen entstehenden genau komplementär gefärbt erscheinen muss.

Bringt man zwischen die gekreuzten (oder parallelen) Nicol'schen Prismen ein Gypsplättchen von bestimmter Interferenzfarbe, zum Beispiel dem vielfach verwendeten Roth I. Ordnung (s. oben), so wird diese Farbe sofort eine Veränderung zeigen, wenn über die Gypsplatte ein anderer (zu untersuchender) doppeltbrechender Körper gebracht wird: es ist klar, dass ein solcher als Verdickung der Gypsplatte wirkt, wenn die Schwingungsrichtungen der beiden durch Doppelbrechung in ihm entstandenen Strahlen parallel denen der Gypsplatte so orientirt werden, dass der im Gyps sich schneller fortpflanzende Strahl sich auch in dem zu untersuchenden Körper schneller fortpflanzt (»Additionslage«): die Interferenzfarbe wird »steigen«, das heisst der eines dickeren Plättchens entsprechend werden. Wenn hingegen die Schwingungsrichtungen der beiden Strahlen des anisotropen Körpers

parallel denen der Gypsplatte so orientirt werden, dass der im Gyps sich schneller fortpflanzende Strahl sich in dem zu untersuchenden Körper langsamer fortpflanzt (»Subtraktionslage«), so ist die Wirkung die einer Verdünnung der Gypsplatte, die Interferenzfarbe »sinkt«, das heisst, sie wird der eines dünneren Plättchens entsprechend. Das Roth I. Ordnung ist eine für solche Untersuchungen sehr geeignete »Uebergangsfarbe«, indem schon bei ganz geringer Verdickung der Gypsplatte ein dunkles Purpur, bei geringer Verdünnung ein Gelblichbraun an seine Stelle tritt. Bilden die Schwingungsrichtungen des zu untersuchenden Körpers mit denen der Gypsplatte Winkel von 45°, so bleibt die Farbe des Grundes unverändert (weiter s. auch »Technik d. Untersuchung etc.«).

In der nachstehenden kleinen Tabelle sind die Interferenzfarben I. bis VI. Ordnung nach Rollett sammt den entsprechenden Dicken der Gypsplättchen in Mm. (der Farbenbezeichnung vorgesetzt) für gekreuzte Nicol-sche Prismen verzeichnet (bei parallelen Nicols treten, wie oben erwähnt, die komplementären Farbentöne auf).

I. Ordnung.	
0	Schwarz.
0,02	Dunkel lavendelgrau.
0,022	Heller lavendelgrau.
0,024	Sehr hell lavendelgrau.
0.025	Bläulichweiss.
0,027	Grünlichweiss.
0,029	Gelblichweiss.
0,03	Blass strohgelb.
0,04	Braungelb.
0,048	Orange (470).
0,051	Roth (490).
II. Ordnung.	
0,053	Purpur (515).
0,056	Violett (545).
0,059	Indigo (565).
0,065	Himmelblau (600).
0,07	Heller himmelblau.
0,076	Sehr hell blaugrün.
0.08	Hellgrün.
0 085	Gelbgrün.
0 09	Gelb (435).
0,096	Hell orange (465).
0,1	Roth (490).
III. Ordnung.	
0,11	Purpur (520).
	Violett (550).
0,12	Blau (570).
0,13	Meergrün (600).
	Grün (640, 442).
0,14	Blass gelbgrün (675, 465).
	Falbes gelb (482).
0,15	Roth (495).
IV. Ordnung.	
0,16	Purpur (515).
	Graublau (560, 431).
	Meergrün (575, 444).
0,2	Grün-Graugrün (600, 462).
	Grauroth (650, 500).
V. Ordnung.	
0,25	Matt blaugrün (575, 468).
	Matt fleischroth (625, 510, 432).
VI. Ordnung.	
0,3	Matt blaugrün (570, 482).

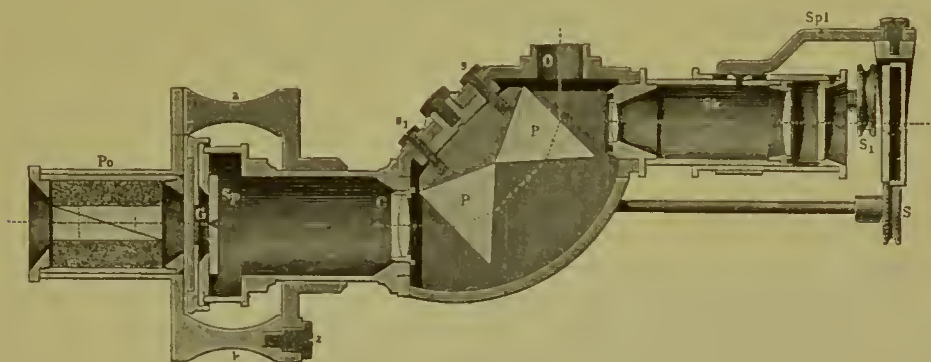
Bei spektraler Zerlegung der Interferenzfarben müssen den durch Interferenz ausgelöschten und an Intensität verminderten Wellenlängen dunkle Streifen (Müller'sche Streifen) im Spektrum entsprechen. In der vorstehenden Tabelle bezeichnen die den Farbenbezeichnungen vom Roth I. Ordnung aufwärts in Klammern nachgesetzten Zahlen die Lagen der Mitten der Interferenzstreifen im Spektrum nach Rollett (Wellenlängen in Milliontelmillimetern). Bei Verdickung der Platte wandert der Streifen vom violetten gegen das rothe, bei Verdünnung vom rothen gegen das violette Ende des Spektrums. Die Zahl der Interferenzstreifen nimmt mit wachsender Dicke des Krystalles und Steigen der Interferenzfarbe zu, und die Streifen vertheilen sich immer gleichmässiger über das ganze Spektrum. Hiedurch bekommen die Interferenzfarben höherer Ordnung immer weisslichere Töne, bis schliesslich, wenn das Spektrum etwa 9 Interferenzstreifen aufweist, nur mehr Weiss wahrgenommen wird.

Auf der spektralen Zerlegung der durch Krystallplatten erzeugten Interferenzfarben und der Benützung der erwähnten Interferenzstreifen beruht der Spektropolarisator (Polarispektromikroskop) von Rollett.

Dieses weiterhin von DIPPEL und ABBE modificirte Instrument, welches ersterer schon als ein gewichtiges Hilfsmittel der mikroskopischen Forschung bezeichnet, dient in ausgezeichneter Weise zur Erkennung geringer Grade und geringer Unterschiede der Doppelbrechung mikroskopischer Objekte und zur genauen Bestimmung derselben nach der Lage und Verschiebung des Interferenzstreifens im Spektrum, sowie zur leichten Bestimmung der Richtungen der Elasticitätsaxen aus der Additions- und Subtraktionslage (Näheres siehe unter »Technik der Untersuchung etc.«); es kann ferner anstatt des ENGELMANN'schen Mikrospektralobjektives und des HARTNACK'schen Beleuchtungsapparates für monochromatisches Licht (vergl. den Artikel: Mikrospektroskopie) verwendet werden. Leider ist der Spektropolarisator noch verhältnissmässig wenig in Gebrauch.

In der jetzt gewöhnlich (von ZEISS) ausgeführten Modifikation des Instrumentes von DIPPEL und ABBE ist es in der nachstehenden Fig. 118 im Längsschnitte dargestellt. Es wird in passender Weise, in der Höhe mittels Zahntriebes verstellbar, horizontal unter dem Objekttische angebracht, und das Licht, am besten Sonnenlicht, mittels eines Uhrwerksheliostaten, wird in horizontaler Richtung zunächst auf den Polarisator *Po* in die Richtung des Spaltrohres *SpC* geleitet.

Fig. 118.



Als Polarisator dient das HARTNACK-PRAZMOWSKI'sche Prisma *Po*, welches in den Zapfen *z* mittels der Kurbel *k* leicht aus- und gegen den Arm *a* wieder eingelegt werden kann. Zwischen dem Polarisator *Po* und dem regulirbaren Spalte *Sp* (vergl. den Artikel: Mikrospektroskopie) ist das verzögernde Gypsplättchen *G* (Roth I. oder II. Ordnung; der Interferenzstreifen des letzteren ist schärfer begrenzt) mittels eines aufsteckbaren Ringes befestigt. Aus der achromatischen Kollimatorlinse *C* gelangt das vom Spalte kommende Licht durch die zwei Flintglasprismen *PP* und weiter spektral zerlegt nach *O*. Hier wird ein nach Bedarf schwächeres oder stärkeres Mikroskopobjektiv (bis zu etwa 6 Mm. Brennweite herab) angeschraubt, welches das Spektrum scharf in die Objektebene projicirt. Von dem vermittels eines am Arme *Spl* angebrachten Spiegels oder besser durch eine Lampe direkt erleuchteten Skalenrohre *Sk* wird gleichzeitig eine ANGSTRÖM-sche Skala scharf in die Objektebene projicirt, welche direkt die Wellenlängen in den einzelnen Theilen des Spektrums abzulesen gestattet. Mittels der Schraube *S* kann der Apparat unter dem Objekttische und damit das Spektrum im Gesichtsfelde, von rechts nach links (in der Längsrichtung des Spektrums), mittels der Schraube S_1 von vorne nach hinten verschoben (centrirt) werden. Als Okular des Mikroskopes wird ein gewöhnliches Analysatorokular verwendet. — Bei der ursprünglichen einfacheren Einrichtung des Polarispektromikroskopes von ROLLETT war ein Prismensystem für

gerade Durchsicht und ein bestimmtes Objektiv zur Projektion des Spektrums in die Objektebene in Verwendung; die Gypsplatte war zwischen dieser Linse und dem Präparate angebracht und ein Skalenrohr fehlte.

Die Anordnung der optischen Theile des Spektropolarisators zum Gebrauche ist folgende: Polarisator und Analysator sind gekreuzt, die Richtung des Spaltes steht unter 45° zu den Schwingungsebenen der beiden; desgleichen die Schwingungsebenen der beiden durch die Doppelbrechung im Gyps entstandenen Strahlen, und zwar derart, dass die Schwingungsrichtung des in der Gypsplatte stärker gebrochenen Strahles (grösste Elasticitätsaxe) parallel dem Spalte, die Schwingungsrichtung des in der Gypsplatte schwächer gebrochenen Strahles (kleinere Elasticitätsaxe) senkrecht auf der Richtung des Spaltes steht. (Weiteres siehe unter »Technik der Untersuchung thierischer Gewebe im polarisirten Lichte«.)

Litteratur: L. Dippel (Handbuch der allgemeinen Mikroskopie, Braunschweig, Vieweg), K. Feussner (Zeit. Instrumentenkunde, 4. Jg., 1884), A. Rollett (ebenda, 1. Jg., 1881), derselbe (Denkschr. kais. Ak. Wiss. Wien, Bd. 58, 1891), derselbe (Sitz. kais. Ak. Wiss. Wien, Bd. 77, 1878), V. v. Ebner (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892). *Zoth*, Graz.

Technik der Untersuchung thierischer Gewebe im polarisirten Lichte. Die Untersuchung thierischer Gewebe im polarisirten Lichte, welche wohl weitaus nicht in dem Umfange geübt wird, wie sie es verdient, wird nicht allein zu dem Zwecke vorgenommen, um in der Anisotropie eines Objektes und dessen besonderem Verhalten bei der Untersuchung im polarisirten Lichte neue Merkmale für das betreffende Gewebe festzustellen, sondern sie kann unter Umständen auch mit Vortheil dazu verwendet werden, anisotrope Gewebstheile — selbst am frischen Objekte — in einer Reinheit und Klarheit zur Darstellung zu bringen, die von keiner anderen (z. B. Färbungs- oder Imprägnations-) Methode übertroffen wird. Ja, es wäre nicht ausgeschlossen, dass in irgend einem Falle Strukturelemente, welche sonst weder durch ihr Brechungsvermögen oder ihre Lichtabsorption, noch durch ihre Färbbarkeit gut zu differenziren wären, erst durch den Nachweis ihrer Anisotropie überhaupt sicher nachgewiesen werden könnten. Bei Untersuchungen mit dem Polarisationsmikroskope ist es, namentlich auch wegen der nothwendigerweise schon durch die Wirkung der Nicol'schen Prismen auftretenden bedeutenden Lichtverluste, mehr als sonst nothwendig, alles falsche Licht, sowohl von unten als von oben her möglichst zu vermeiden. Ein genügend breiter, vor dem Mikroskope aufgestellter schwarzer Schirm, welcher bis in Scheitelhöhe des Beobachters reicht und unten nur einen kleinen Ausschnitt für das auf den Spiegel einfallende Tageslicht trägt, wird meist schon ausreichen. Besonders sorgfältig muss falsches Licht auch bei Verwendung des Spektropolarisators von allen Seiten abgehalten werden. — Bei feineren Untersuchungen stört manchmal in lästiger Weise eine — für gewöhnlich kaum auffallende — geringere oder stärkere Anisotropie der Objektivsysteme (auch der Kondensoren). Von derselben kann man sich leicht durch Drehen des Objektives am Tubus zwischen gekreuzten Nicols und über der Gypsplatte überzeugen. Es ist natürlich am besten, auf die Verwendung solcher — gar nicht so seltener und sonst ganz guter — Objektive bei feineren Untersuchungen im polarisirten Lichte zu verzichten.

Die nunmehr zu besprechenden Methoden der Untersuchung thierischer Gewebe im polarisirten Lichte setzen zum Verständnisse die Kenntniss des vorstehenden Artikels »Polarisationsmikroskop« und, sowie dieser, der Grundzüge der physikalischen Polarisationslehre voraus.

Einfache Untersuchung auf Doppelbrechung; Verhalten isotroper und anisotroper Substanzen. Nachdem das Objekt bei parallelen Nicols in die Mitte des Gesichtsfeldes eingestellt worden ist, wird der Analysator

um 90° gedreht, so dass das Gesichtsfeld die grösste Dunkelheit erreicht. Es ist zweckmässig, den Theilkreis des Analysators und die Nicols stets so zu justiren, dass in dieser Stellung der Analysator auf dem Nullstriche des Theilkreises einspielt und seine Schwingungsebene sagittal, die des Polarisators also quer (frontal) zum Beobachter liegt. In dieser (gekreuzten) Stellung verbleiben die beiden Nicols während der Untersuchung. Auf dem drehbaren Objekttische wird nun das Präparat langsam im Kreise um volle 360° herumgedreht. Erscheint der untersuchte Körper hierbei viermal im Maximum der Helligkeit (heller) und viermal im Maximum der Dunkelheit (dunkler), welche Stellungen um je 45° von einander verschieden sind, so ist er doppeltbrechend. Ausser den hiebei an den doppeltbrechenden Objekten mehr oder weniger deutlich auftretenden Interferenzfarben können bei komplicirteren Strukturen noch weitere besondere Erscheinungen beobachtet werden (s. unten). Bei schwachen Graden von Anisotropie oder sehr dünnen Objekten ist auch die auftretende Erhellung sehr gering.

Zeigt der Körper die eben als charakteristisch beschriebene Erscheinung nicht, sondern bleibt er bei einer vollen Umdrehung um 360° zwischen den gekreuzten Nicols in allen Azimuthen gleich dunkel im dunklen Sehfelde, so sind folgende drei Möglichkeiten zu berücksichtigen:

a) Der Körper ist anisotrop, aber zufällig so gelagert, dass die Richtung der optischen Axe seiner sämmtlichen anisotropen Theilchen mit der Richtung der optischen Axe des Mikroskopes übereinstimmt. In dieser Richtung gesehen verhält er sich wie ein einfachbrechender (isotroper) Körper. In einem solchen Falle muss man versuchen, den Körper auf dem Objektträger in eine andere Lage zur optischen Axe des Mikroskopes zu bringen oder anders aufzupräpariren und die Untersuchung wiederholen.

b) Der Körper ist isotrop. Auch bei Veränderungen seiner Lage zur optischen Axe des Mikroskopes bleibt er bei vollen Drehungen im Kreise zwischen gekreuzten Nicols stets vollkommen dunkel.

c) Der Körper ist anisotrop, jedoch nur in sehr geringem Grade, oder er kommt in zu dünner Schichte zur Untersuchung. In diesem Falle muss zur Untersuchung mit dem verzögernden Gypsplättchen übergegangen werden.

Liegen viele, bestimmt gleichartige Elemente im Gesichtsfelde unregelmässig zerstreut neben und über einander, wie z. B. in Krystallisations- oder in Isolations- und Zupfpräparaten, so kann das Drehen des Präparates im Kreise, wie leicht ersichtlich, füglich entfallen. Es wird dabei auch kaum je die Entscheidung über die eben unter *a*, *b*, *c* angeführten Möglichkeiten in Frage kommen.

Untersuchung mit dem verzögernden Gypsplättchen. Das verzögernde Gypsplättchen, für die meisten Zwecke am besten ein solches von Roth I. Ordnung, wird bei gekreuzten Nicol'schen Prismen über dem Polarisator eingelegt und so zurechtgedreht, dass das Gesichtsfeld das Roth I. Ordnung im Maximum der Intensität zeigt. Das Gypsplättchen liegt dann eben so, dass seine Schwingungsebenen (Elasticitätsaxen) unter Winkeln von 45° zu den Schwingungsebenen der beiden Nicols orientirt sind. Für genauere Untersuchungen ist es noch nothwendig, die Richtung der grössten und der kleinsten Elasticitätsaxe der Gypsplatte (I. und II. Mittellinie) von einander zu unterscheiden. Zu diesem Zwecke wird die unter 45° zwischen den Nicols orientirte Gypsplatte durch Neigen ein wenig um die eine oder andere Mittellinie gedreht. Bei Drehung um die erste Mittellinie steigt die Interferenzfarbe, bei Drehung um die zweite Mittellinie sinkt sie. Diese Richtungen kann man sich zweckmässig ein- für allemal an der Fassung des Gypsplättchens bezeichnen. Die erste Mittellinie (grösste Elasticitätsaxe, Schwingungsrichtung des stärker gebrochenen Strahles im Gyps) wird bei Untersuchungen, wo es auf ihre Lage ankommt (s. unten), unter + 45° (von

oben gesehen nach rechts bei der früher angegebenen normalen Stellung der gekreuzten Nicols) eingestellt; die dazu senkrechte Richtung (315°) der zweiten Mittellinie wird dann auch mit — 45° bezeichnet.

Nachdem also das Gypsplättchen richtig auf das Maximum des Roth I. Ordnung eingestellt ist, wird das zu untersuchende Objekt wieder auf den drehbaren Objekttisch gebracht und einmal im Kreise um 360° gedreht. Wenn es anisotrop ist, muss es im allgemeinen bei dieser Drehung zweimal in Additionslage und zweimal in Subtraktionslage zur Gypsplatte kommen, während es in den vier dazwischen liegenden Stellungen in der Farbe des Gypsgrundes erscheint, also zum Beispiele bei Azimuthen von 0°, + 90°, 180°, 270° (— 90°) in der Farbe des Grundes, Roth I. Ordnung; bei + 45° und 225° (— 135°) in Additionslage: Steigen der Farbe, z. B. Violett II. Ordnung; bei + 135° und 315° (— 45°) in Subtraktionslage: Sinken der Farbe, z. B. Braungelb I. Ordnung (vergl. Artikel »Polarisationsmikroskop«). Auch über dem verzögernden Gypsplättchen werden bei komplicirteren Strukturen noch weitere besondere Erscheinungen als Folgen eben dieser Strukturverhältnisse beobachtet.

Anstatt des Gypsplättchens I. Ordnung können auch solche anderer Farben I. und II. Ordnung verwendet werden. Dies wird jedoch höchst selten erforderlich sein. Dippel empfiehlt namentlich neben dem Roth I. das Uebergangsviolett II. Ordnung, Mohl für sehr schwach doppeltbrechende Körper Glimmerplättchen, welche dem Sehfelde eben eine mässig graublaue Erhellung verleihen, und über denen die Zunahme und Verminderung der Helligkeit des Körpers beim Drehen beobachtet wird. Mit dem erwähnten oder einem ihm nahekommenden Gypsplättchen findet man jedoch, wie gesagt, für die meisten Untersuchungen thierischer Gewebe sein Auslangen. Ein feiner Beobachter wird sich bei der Wahl seines Gypsplättchens nach der individuellen Farbenempfindlichkeit seines Auges richten können.

Genauere Feststellung der optischen Eigenschaften anisotroper organischer Elemente. Hiebei handelt es sich um die Bestimmung des optisch einaxigen oder zweiaxigen und des positiven oder negativen Charakters der Doppelbrechung, um die Feststellung der Richtung der optischen Axe oder der Ebene der optischen Axen und der Lage der Elasticitätsaxen bei optisch zweiaxigen Körpern. Bei den am meisten verbreiteten optisch einaxigen thierischen Geweben, die in zwei oder drei deutlich zu unterscheidenden Richtungen des Raumes entwickelt sind, fällt die optische Axe gewöhnlich mit einer dieser Richtungen (axiale, radiale und tangentiale Richtung) zusammen; bei den selteneren optisch zweiaxigen organisirten Elementen, die in ähnlicher Weise räumlich entwickelt sind, fallen die beiden optischen Axen meist in eine Ebene, deren Richtung durch die Längs- und eine Querdimension oder durch die zwei Querdimensionen bestimmt ist. Sehr selten werden an organischen Gebilden schiefe Richtungen der einen oder der beiden optischen Axen beobachtet.

Wenn es von einem optisch einaxigen thierischen Gewebe, das in der angedeuteten Weise räumlich entwickelt ist, so dass sich eine Längsrichtung von den darauf senkrechten Querrichtungen deutlich unterscheiden lässt, heisst, die optische Axe stehe axial, radial oder tangential, oder von einem optisch zweiaxigen ähnlich entwickelten Gewebe, die Ebene der optischen Axen liege im Querschnitte oder im diametralen oder im tangentialen Längsschnitte, so heisst das, dass das betreffende Gewebe oder Gewebselement aus kleinsten Theilchen zusammengesetzt zu denken ist, deren jedes eine axiale, radiale oder tangentiale Axe (bei optisch einaxigen) besitzt, oder deren jedes eine im Querschnitte oder im diametralen oder im tangentialen Längsschnitte liegende Axenebene (bei optisch zweiaxigen) besitzt. Hieraus lassen sich alle die mannigfachen und oft sehr komplicirten Erscheinungen

ableiten, welche an verschieden gebauten organischen Objekten bei verschiedenen Lagen der optischen Axen und verschiedenem Charakter der Doppelbrechung im Polarisationsmikroskope zu beobachten sind.

Schon die Bestimmung der optisch-einaxigen oder optisch-zweiaxigen Beschaffenheit kann mitunter Schwierigkeiten bereiten. Wenn jedoch, was der häufigste Fall ist, die Richtung der optischen Axe eines einaxigen Körpers mit einer der kenntlichen drei Hauptdimensionen des Objektes zusammenfällt, dann wird sich bei Aufpräparirung des Objektes in drei diesen Hauptdimensionen entsprechenden Lagen unschwer eine Lage finden lassen, in welcher die optische Axe des Objektes in die Richtung der optischen Axe des Mikroskopes fällt, und der Körper sich dann (bei nicht zu grosser Flächenausdehnung) wie ein einfachbrechender oder isotroper verhalten, das heisst bei Drehung um 360° zwischen den gekreuzten Nicols in allen Azimuthen gleich dunkel oder über der Gypsplatte in der Farbe des Grundes erscheinen. Ein solches Verhalten zeigen die Querschnitte der meisten faserigen anisotropen thierischen Gewebselemente, wegen der zumeist axialen Lage ihrer optischen Axe. — Bei zweiaxiger Beschaffenheit des Objektes treten hingegen in allen Lagen zur Axe des Mikroskopes Interferenzfarben, beziehungsweise Veränderungen der Helligkeit des Objektes beim Drehen im Kreise zwischen den gekreuzten Nicol'schen Prismen auf.

Im nachstehenden soll die Art und Weise der genaueren Feststellung der besonderen optischen Eigenschaften anisotroper organischer Elementartheile auf Grund der im Polarisationsmikroskope zu beobachtenden Erscheinungen, welche Feststellung bei komplicirten Strukturen mitunter grosse Schwierigkeiten bereiten kann, nur an einem der einfachsten Beispiele, welches zugleich einen unter den thierischen Geweben häufig vorkommenden Fall repräsentirt, nämlich an dem soliden, optisch-einaxigen Cylinder, und zwar für die drei verschiedenen Hauptlagen der optischen Axen, für das Querschnitts- und Längsschnittsbild übersichtlich dargestellt werden.

I. Querschnitt (Flächenansicht).

A. Optische Axe axial.

Zwischen gekreuzten Nicols in allen Azimuthen dunkel, bei nicht zu grosser Ausdehnung des Querschnittes. Sonst nur die Mitte ganz dunkel, weiter dunkles Kreuz, parallel den Nicols, ähnlich wie bei einaxigen, senkrecht zur Axe geschliffenen Krystallplatten.

B. Optische Axe radial.

Dunkles Kreuz zwischen gekreuzten Nicols, die zwischenliegenden Quadranten in Interferenzfarben erhellt. Auf der Gypsplatte: Rothes Kreuz, parallel den Nicols; in abwechselnden Quadranten Additions- und Subtraktionsfarben.

C. Optische Axe tangential.

Dunkles Kreuz zwischen gekreuzten Nicols, die zwischenliegenden Quadranten in Interferenzfarben erhellt. Auf der Gypsplatte: Rothes Kreuz; in abwechselnden, den bei radialer Axe entgegengesetzten Quadranten Subtraktions- und Additionsfarben.

II. Längsschnitt (Seitenansicht).

A. Optische Axe axial.

Der Cylinder erscheint in Orientirung unter ± 45° vom Rande gegen die Mitte in parallelen steigenden Interferenzfarbenstreifen, die gegen die

Mitte immer breiter werden; in der Mitte selbst ein breiter Längsstreifen der höchsten Interferenzfarbe. Auf der Gypsplatte: *a)* Positiver Charakter der Doppelbrechung: In der Orientirung unter + 45⁰ steigen die in Addition befindlichen Interferenzfarben vom Rande gegen die Mitte. In der Orientirung unter — 45⁰ sinken die in Subtraktion befindlichen Interferenzfarben vom Rande an bis dahin, wo sich die Farbe des Objektes und des Gypsgrundes löschen; von da an steigen sie, die Mitte zeigt die höchste Farbe. *b)* Negativer Charakter der Doppelbrechung: Vertauschung der Interferenzfarben, Subtraktionsfarben unter + 45⁰, Additionsfarben unter — 45⁰, sonst dieselben Erscheinungen.

B. Optische Axe radial.

Der Cylinder erscheint in Orientirung unter ± 45⁰ vom Rande gegen die Mitte in steigenden Interferenzfarbenstreifen, die aber weiter wieder bis zu einem dunklen, die Mitte des Cylinders einnehmenden Längsstreifen sinken. Auf der Gypsplatte: *a)* Positiver Charakter der Doppelbrechung: In der Orientirung unter + 45⁰ zeigt sich, in Subtraktionslage, vom Rande gegen die Mitte zuerst Sinken, dann rasches Steigen, dann wieder Sinken und endlich Steigen der Interferenzfarbe bis zur Mitte; in der Orientirung unter — 45⁰, in Additionslage, rasches Steigen der Interferenzfarbe vom Rande aus, dann Sinken bis zur Mitte, in welcher ein Streifen in der Farbe des Grundes erscheint. — *b)* Negativer Charakter der Doppelbrechung: Vertauschung der Interferenzfarben, Additionsfarben unter + 45⁰, Subtraktionsfarben unter — 45⁰, sonst dieselben Erscheinungen.

C. Optische Axe tangential.

Beide Ränder des Cylinders in Orientirung unter ± 45⁰ dunkel; von da an Steigen der Interferenzfarben gegen die Mitte. In der Mitte selbst ein breiter Streifen der höchsten Interferenzfarbe. Auf der Gypsplatte: *a)* Positiver Charakter der Doppelbrechung: In der Orientirung unter + 45⁰ sinken die in Subtraktion befindlichen Interferenzfarben vom Rande gegen die Mitte, ähnlich wie bei axialer Axe unter — 45⁰. Die Ränder des Cylinders erscheinen in der Farbe des Grundes. In der Orientirung unter — 45⁰ steigen die in Addition befindlichen Interferenzfarben vom Rande gegen die Mitte. — *b)* Negativer Charakter der Doppelbrechung: Vertauschung der Interferenzfarben, Additionsfarben unter + 45⁰, Subtraktionsfarben unter — 45⁰.

Untersuchung der Doppelbrechung mit dem Spektropolarisator. Die Anordnung der optischen Theile des Spektropolarisators zum Gebrauche desselben ist im Artikel »Polarisationsmikroskop« unter »Spektropolarisator« auseinandergesetzt. Ebenso ist bereits erwähnt, dass zur Beleuchtung des Spaltes am besten mittels eines Uhrwerks-Heliostaten reflektirtes Sonnenlicht, zur Beleuchtung der Skala am besten direktes Lampenlicht zu verwenden ist und die Abblendung alles falschen Lichtes eine sehr vollkommene sein muss. Sollen Messungen im Spektrum vorgenommen werden, so hat man sich zu überzeugen, dass der Theilstrich 0,589 der Angström'schen Skala genau mit der D Linie zusammenfällt. Sollte dies nicht der Fall sein, so kann es leicht durch vorsichtiges Verstellen der beiden Schräubchen s und s_1 des Spektropolarisators (Artikel »Polarisationsmikroskop«, Fig. 119) erreicht werden. — Nachdem das auf den drehbaren Objekttisch gebrachte Objekt eingestellt ist, wird durch Heben oder Senken des Spektropolarisators das Spektrum mit dem Interferenzstreifen der Gypsplatte scharf in die Objektebene eingestellt und zunächst so verschoben, dass sich das Objekt gerade mitten auf dem dunklen Interferenzstreifen befindet. Man dreht nunmehr das Objekt auf dem drehbaren Objekttische

(oder mit dem ganzen Obertheile des Mikroskopes, ohne den Analysator mitzudrehen) im Kreise um 360°: bleibt es in allen Azimuthen dunkel, so ist es isotrop, leuchtet es dagegen in zwei um 90° von einander verschiedenen Stellungen in der durch den Interferenzstreifen ausgelöschten Spektralfarbe auf, so ist es doppeltbrechend. Es wirkt dann eben in der einen Stellung als Verdickung, in der darauf senkrechten als Verdünnung der Gypsplatte. Nunmehr wird das Spektrum unter dem auf das Maximum seiner Helligkeit über dem Interferenzstreifen eingestellten Objekte verschoben, und zwar einmal gegen das rothe, das andere Mal gegen das violette Ende hin. Verdunkelt sich jetzt das anisotrope Objekt in einer vom Interferenzstreifen gegen das rothe Ende des Spektrums zu gelegenen Farbenregion, so befindet es sich in Additionslage zur Gypsplatte und seine grössere Elasticitätsaxe ist der der Gypsplatte parallel gerichtet. Verdunkelt es sich jedoch in einer vom Interferenzstreifen gegen das violette Ende des Spektrums zu gelegenen Farbenregion, so befindet es sich in Subtraktionslage zur Gypsplatte und seine grössere Elasticitätsaxe ist der kleineren Elasticitätsaxe der Gypsplatte parallel gerichtet. Die Grösse der Verschiebung, welche nothwendig ist, um die Verdunkelung hervorzurufen, lässt — bei gleicher Dicke — auf den Grad der Doppelbrechung schliessen. — Kugelförmige Körper und Cylinderdurchschnitte mit radial und tangential angeordneten Elasticitätsaxen zeigen in Additionslage Verdunkelung der unter + 45° gelegenen (1. und 3.) Quadranten in gegen das Roth, der unter — 45° gelegenen (2. und 4.) Quadranten in gegen das Violett zu liegenden Farbenregionen; in Subtraktionslage umgekehrt Verdunkelung der unter + 45° gelegenen Quadranten in gegen das violette und der unter — 45° gelegenen Quadranten in gegen das rothe Ende des Spektrums zu liegenden Farbenregionen. —

Anisotropie einfacher thierischer Gewebe. Dieselbe findet sich in allen Geweben mehr minder stark ausgebildet, welche infolge ihrer Wachsthumsverhältnisse oder physiologischen Verrichtungen ungleichmässigen und orientirten Spannungs- und Druckverhältnissen ausgesetzt sind, so namentlich in fibrillär entwickelten Elementartheilen, aber auch an Membranen und in geschichteten Zellenlagen. Von den einfachen Geweben der höheren Thiere zeigen Anisotropie: Gewebe der Bindesubstanzen, Muskelgewebe, Nervengewebe und Deckgewebe. Im nachstehenden sei eine kurze Uebersicht der wichtigsten anisotropen Gewebe aufgeführt:

I. Bindesubstanzen.

Die Anisotropie des fibrillären Bindegewebes, des Knochens, des Knorpels, des Zahnbeines, des Hornhautgewebes ist auf die positiv einaxige Beschaffenheit der Bindegewebs-, Knochen-, Knorpel-, Zahnbein-, Hornhautfibrillen zurückzuführen. Die optische Axe liegt in der Längsrichtung der Fibrillen (axial). Durch die verschiedenartige Anordnung der Fibrillen in einzelnen Geweben (Knochen, Knorpel) können ziemlich verwickelte, mitunter schwierig zu erklärende Erscheinungen im polarisirten Lichte hervorgebracht werden. Die elastischen Fasern sind in ungedehntem Zustande nur in geringem Grade anisotrop, und zwar positiv einaxig, die optische Axe liegt axial. Die Linsenkapsel ist negativ einaxig, die optische Axe senkrecht zur Fläche orientirt.

II. Muskelgewebe.

Die glatten Muskelfasern sind positiv einaxig, die optische Axe liegt axial. Quergestreifte Muskelfasern: Sarkoplasma und Streifen, *I* und *E* (nach Rollett) isotrop, die anisotropen Schichten *Q*, *N* und *Z* positiv einaxig, die optische Axe axial; *Q* am stärksten, *N* und *Z* schwächer doppeltbrechend. Im kontrahirten Muskel ist *C* isotrop, *Q'* anisotrop.

Bei der Kontraktion tritt starkes Sinken der Doppelbrechung ein, so dass dadurch sogar die von der gleichzeitigen Verdickung der Faser bedingte Farbenänderung (über der Gypsplatte) weit überkompensirt wird. Auch in der Todtenstarre nimmt die Doppelbrechung ab.

III. Nervengewebe.

Anisotrop sind die Markscheiden der markhaltigen Nervenfasern. Dieselben erweisen sich als positiv einaxig, mit radial gerichteten optischen Axen. Die im Polarisationsmikroskope zu beobachtenden Erscheinungen sind demnach im wesentlichen die oben unter I*B* und II*B* für den Querschnitt und die Längsansicht des einaxigen Cylinders abgeleiteten.

IV. Deckgewebe.

Geschichtete Plattenepithelien sind in den oberflächlichen Zelllagen negativ einaxig, in den tiefen positiv einaxig, die Axe ist senkrecht zur Oberfläche des Epithels gerichtet. Sehr stark anisotrop, wahrscheinlich optisch zweiaxig, sind die Hornzellen der Epidermis. Die Rindensubstanz markloser Haare ist positiv einaxig, die Axe axial gerichtet. In markhaltigen Haaren zeigen die den Markraum begrenzenden Schichten der Rindensubstanz ein Elasticitätsellipsoid mit radialer kürzester Axe. Der Nagel ist optisch zweiaxig, die grösste Elasticitätsaxe liegt annähernd in der Richtung der Längsaxe, die kleinste senkrecht zur Oberfläche, die mittlere in der Querrichtung des Nagels. Das Trachealepithel erweist sich in den tieferen Schichten als optisch einaxig, die Axe ist senkrecht zur Oberfläche orientirt; in den höheren Schichten ist keine Doppelbrechung nachweisbar. Die Flimmerhaare selbst sind positiv einaxig, die Axe fällt mit der Längsrichtung des Haares zusammen. Die weichen Cylinderepithelien innerer Organe sind isotrop. Der Zahnschmelz ist negativ einaxig (noch nicht völlig ausgebildeter positiv), die optische Axe liegt in der Längsaxe der Prismen. Die Schwänze von Spermatozoen sind positiv, der Kopf negativ einaxig.

In Bezug auf die Einwirkungen von Dehnung, Pressung, Quellung, Schrumpfung und anderen Einflüssen auf die Doppelbrechung thierischer Gewebe und die Hypothesen zur Erklärung derselben (Micellar- und Spannungshypothese) kann hier nur auf die grundlegenden Untersuchungen von Ebner verwiesen werden.

Litteratur: L. Dippel (Handbuch der allgemeinen Mikroskopie, Braunschweig, Vieweg), A. Rollett (Zeit. Instrumentenkunde, 1. Jg., 1884), derselbe (Denkschr. kais. Ak. Wiss. Wien, Bd. 58, 1891), W. Müller (Zeit. ration. Med., 3. Reihe, Bd. 10, 1861), W. Engelmann (Pflüger's Arch., Bd. 11, 1875), V. v. Ebner (Untersuchnngen über die Ursachen der Anisotropie organisirter Substanzen. Leipzig, Engelmann, 1882). *Zoth*, Graz.

Polarisationsmikroskop. Anwendung für pflanzliche Gewebe. (Es können hier nur die hauptsächlich in Betracht kommenden Objekte und die Hauptlitteratur erwähnt werden.)

1. Die Stärkekörner (s. diese) verhalten sich im polarisirten Licht wie Sphärokrystalle: sie zeigen bei gekreuzten Nicols auf hellem Grunde ein schwarzes Kreuz, dessen Arme in den Schwingungsrichtungen der Nicols stehen, und dessen Mittelpunkt im Kern des Kornes liegt. Central liegt er z. B. bei den centrisch gebauten Weizen- und Bohnenstärkekörnern, seitlich bei der excentrisch gebauten Kartoffelstärke. Die längere Axe des optischen Elasticitätsellipsoids ist radial, die kürzere tangential orientirt. — Die Doppelbrechung der Stärke beweist nicht ohne weiteres ihren sphärokrystallinischen Bau (Sphärokrystalle Arth. Meyer), sondern kann auch durch ihre verschiedene Dichtigkeit, bedingt durch die Art ihres Entstehens erklärt werden (H. Fischer). Ganz entsprechend der Stärke verhalten sich die Inulin»sphärokrystalle« (H. Fischer).

2. Alle cellulosehaltigen Zellmembranen sind doppelbrechend, ebenso die von ihnen abstammenden Schleime (z. B. Salep der Orchideenwurzeln, während die nur pektinhaltigen isotrop sind. So zeigen sich bei einem zarten Querschnitt durch Kiefernholz (Streichholz) bei gekreuzten Nicols, wenn der Schnitt so orientirt ist, dass die Wände der annähernd rechteckigen Zellen hell, die Ecken dunkel erscheinen, die primäre Wandung und das Grenzhäutchen hellleuchtend, die sekundären Verdickungsschichten grau, während die Mittellamelle ganz dunkel bleibt. — Das optische Elasticitätsellipsoid besitzt bei allen doppelbrechenden Membranen drei verschiedene Axen, es kann parallel der Längsaxe der Zellen liegen, liegt aber oft auch schräg zu ihr entsprechend der Tüpfelrichtung. — Es ist versucht worden, eine mikrotechnische Unterscheidung von Pflanzenfasern verschiedener Herkunft im polarisirten Licht zu begründen, doch wird dies sehr erschwert durch die ungleiche Dicke der Objekte. Im allgemeinen scheinen fettartige Einlagerungen den Grad der Doppelbrechung herabzusetzen (Remec, dort auch übrige Litteratur) — Cellulosemembranen, durch Chlorzinkjod gefärbt, zeigen sehr schönen Pleochroismus: Im polarisirten Lichte lassen sich die Farben der einzelnen Strahlen getrennt beobachten, während sie bei der gewöhnlichen Beobachtung als Mischfarben erscheinen.

Litteratur: Dippel (Mikroskop, 2. Aufl., Bd. 2, 1898), Ambronn (Anleitung zum Gebrauch des Polarisationsmikroskops 1892), kurz zusammengefasst bei Strasburger (Gr. Bot. Prakt. 1856), Remec (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 110, 1901). *Magnus*, Berlin.

Pollen. Die in den Staubfädenfächern der höheren Pflanzen enthaltenen männlichen Geschlechtsprodukte, die Pollenkörner, zeichnen sich vielfach durch eigenthümliche Verdickungen der äusseren Membran, Exine, aus. Deren Studium gelingt am besten, falls nicht die gewöhnliche Einbettung mit Paraffin angewendet wird, wenn im Alkohol gehärtete Körner in einen Tropfen Gummilösung, der etwas Glycerin zugesetzt ist, gebracht werden. Der etwa auf ein Stückchen Hollundermark befestigte Tropfen wird durch Austrocknen oder mehrstündiges Verweilen in absolutem Alkohol gehärtet und dann mit scharfem Rasirmesser leicht in sehr feine Theile zerlegt.

Die Pollenkörner enthalten meist einen grösseren, locker gebauten vegetativen und einen kleineren, dichter strukturirten, in eine uhrglasförmige Zelle eingeschlossenen generativen Kern, der sich bei der Keimung entweder gleich oder nach dem Eintritt in den Pollenschlauch vor der Befruchtung theilt. — Bei vielen Pollenkörnern ist eine Keimung in Zuckerlösung leicht zu erreichen. Im Winter und Frühjahr sind hiefür am geeignetsten: Gartentulpen, Tradescantia in 1—3%, Narzisse (Narcissus poeticus) in 5%iger Zuckerlösung. Im Sommer Wickenarten (Lathyrus) in 15%iger Lösung. Besonders bei letzterem Objekt gelingt die Keimung so schnell (eine Stunde) und wächst der Pollenschlauch selbst so schnell, dass ein Vorwärtsschreiten unter dem Mikroskop auf der Theilung eines Okularmikrometers leicht verfolgt werden und die Abhängigkeit des Wachsthums von Licht, Wärme u. s. w. leicht festgestellt werden kann. Hierzu, besonders auch zum Studium des Chemotropismus, ist es zweckmässig, der Zuckerlösung Gelatine, etwa 1,5% oder Agaragar, noch gerade erstarrend, zuzufügen. Die chemotropische Reizbarkeit wird dargethan durch das Hineinbringen der Narbe an eine Seite des Präparates oder eines Körnches Diastase.

Litteratur: Lidforss (Bericht deutsch. bot. Ges., Bd. 17, 1899). *Magnus*, Berlin.

Pourpre française siehe Orseille.

Primerose, Syn. für Eosin sprit. löslich.

Primula, Syn. für Dahlia.

Prismenrotator siehe Experimentell-embryologische Methoden.

Prodigiosin zur Färbung verkorkter Membranen siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Projektion nennt man das Hinwerfen eines reellen Bildes eines durchleuchteten oder beleuchteten Objekts von demselben aus mittels Lichtstrahlen, die alle Punkte des Objekts, welche von einem anderen Punkt aus sichtbar oder bestrahlbar sind, mit diesem Lichtknotenpunkt verbinden.

Projektionen theilen sich in parallele und centrale, in natürliche und künstliche und in diejenigen mittels durchgehenden und auffallenden Lichts.

Da die geringe durch die Sonnenbreite bedingte Neigung der Sonnenstrahlen zu einander die Schatten aller Objekte in der Eigengrösse erscheinen lässt, wird diese natürliche Projektion, wie auch andere, bei denen nur eine unmerklich veränderte Bildgrösse hervortritt, als eine Parallelprojektion betrachtet. Centralprojektionen dagegen sind solche mit centrisch verlaufenden Strahlen, bei denen eine merkliche Vergrösserung oder Verkleinerung im Bilde bewirkt wird. Reine Central- wie reine Parallelprojektionen sind unbekannt, fast reine beiderlei Art sind lichtschwach. Künstliche Lichtquellen, die der Projektion dienen, geben zunächst divergentes Licht, das, wenn sie klein sind, zu verschiedener Verwendung genügend homocentrisch ist.

Gegenstände in divergentes Licht gestellt, werfen Schatten, oder falls sie mehr oder weniger durchsichtig sind, nur Halbschatten, die sich im Durchmesser proportional der Entfernung vom Gegenstand vergrössern. Indessen zeigen einfache Schattenbilder, wie die z. B. einer Hand, in einigem Abstand vor einer Wand nur grobe Konturen.

In konvergirtem Licht projicirt sich zwischen einem durchleuchteten Objekt und dem Lichtknotenpunkt ein aufrechtes, mit der Entfernung vom Objekt sich stetig verkleinerndes, hinter dem Knotenpunkt dagegen ein umgekehrtes, sich ebenso vergrösserndes Bild. Auf einer in den Gang der Strahlen eingestellten, undurchsichtigen, reflektirenden Fläche wird das Bild sichtbar, aber auch mit unscharfen Konturen.

Diese Unschärfe ist weniger auffallend an dem aufrechten Bild, da es immer eine verkleinerte Darstellung des Objekts abgiebt, die deshalb selten in Anspruch genommen wird.

Das umgekehrte Bild dagegen, das mit steigender Vergrösserung an zunehmender Unschärfe leidet, erfährt eine Verbesserung durch die einfache Projektion mittels einer Camera obscura, Lochkamera genannt, bei welcher eine kleine Oeffnung in der Vorderwand als Lichtknotenpunkt, die Hinterwand als Projektionsfläche und die Seitenwände zum Ausschluss bildstörenden Lichtes dienen. Bei jeder Entfernung der Kamera von dem Gegenstand und des Lichtknotenpunkts von der Projektionsebene fällt auf diese ein deutliches, aber lichtschwaches Bild des Objekts, dessen optische Schärfe und Lichtschwäche mit der Kleinheit der Oeffnung zunehmen. Die Lochkamera wird jetzt nur gelegentlich in der Photographie, deren optische Grundlage sie bildet, benutzt. Indessen zum Nachzeichnen grober Umrisse von im Sonnenlicht befindlichen Gegenständen in beliebiger Entfernung und Vergrösserung ist die einfache Camera obscura, bez. »Solarkamera« gut verwendbar, denn mit der Lichtschwäche des Bildes steigert sich die Lichtempfindlichkeit des im Dunkeln gehaltenen Auges.

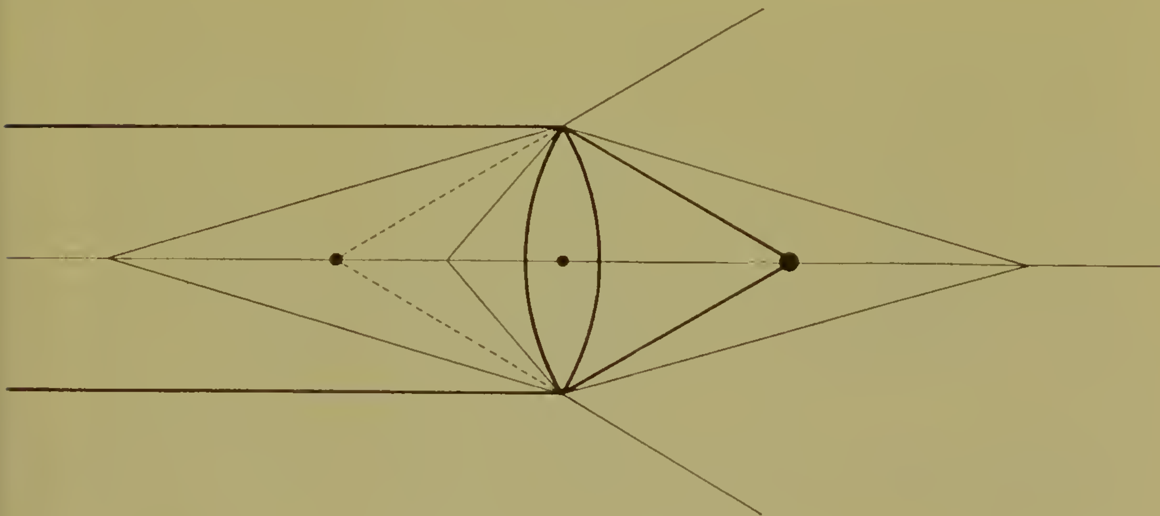
Durch Einsatz einer Sammellinse am Lichtknotenpunkt der Camera obscura lässt sich dieser in der Breite vervielfachen, die durchgelassene Lichtmenge dadurch stark vermehren und dementsprechend die optische Schärfe und die Helligkeit des Bildes weit erhöhen. Hierin wirkt die Linse als Objektiv. Die Projektion mittels Objektive kann man die

dioptrische nennen, da sie nach dem Gesetze der konjugirten Brennweiten erfolgt.

Die Helligkeit des projicirten Bildes wird ausser durch das Objektiv durch Beleuchtungslinsen erhöht, die im Falle von durchsichtigen Abbildungen verschiedenster Gegenstände das Licht geradlinig durch dieselben auf das Objektiv konvergiren. Hierdurch kommt, wie bei der Lochkamera, eine geometrische Projektion zustande. Diese geometrische Projektion ist ohne die Hinzunahme der dioptrischen nur eine grobe und immer eine unzulängliche infolge der unvollkommenen Homocentricität des Lichtes und der üblichen starken Vergrösserung des Bildes. Bei aller Projektion erfolgt mit vermehrtem Abstand des Bildes vom Lichtknotenpunkt eine Helligkeitsabnahme desselben, die sich infolge der Flächenvergrösserung und mit dieser wie das Quadrat der Entfernung vermehrt. Bei der dioptrischen Projektion ist im Gegensatz zu der einfach geometrischen mittelst der Lochkamera der Abstand des Bildes vom Lichtknotenpunkt immer ein durch die Brennweite und die Lage des Objektivs bestimmter.

Das erwähnte Grundgesetz der Dioptrik, das diesen Abstand regelt, lautet in einfachster und genauer Form $o:F=F:b$, wo die Strecken von

Fig. 119.



dem beiderseitigen Hauptbrennpunkt aus bis zum Objekt o, bis zur Bildfläche b und F die Brennweite der Linse bedeuten. Dasselbe gilt nicht weniger für Werthe von o, die in der Folge auch solche von b bedingen, welche innerhalb der Hauptbrennpunkte statt ausserhalb derselben liegen und nur auf divergentes Licht, bezw. virtuelle Bilder Bezug haben, und dient somit zur Berechnung sämmtlicher optischen Abstände bei der Projektion, inkl. der »Linsendicke«, d. h. der optischen Länge der Beleuchtungslinsen, bezw. Objektive, die einen Rest darstellt, der nach Abzug der vierfachen wirklichen oder »Hauptbrennweite« von der Summe der symmetrisch äquilibrirten »Doppelbrennweiten« übrig bleibt. Eine schematische Erläuterung des Gesetzes giebt Fig. 119, die die Hauptfälle der Dioptrik, die hier in Betracht kommen, veranschaulicht, nämlich die Vereinigung von parallelem Licht im Hauptbrennpunkt einer Linse und von divergentem Licht aus der doppelten Brennweite wieder in derselben Entfernung jenseits der Linse, ferner die Brechung von divergentem Licht aus der halben Brennweite, wie aus dem gleichseitigen Hauptbrennpunkt weniger divergent hervorgehend.

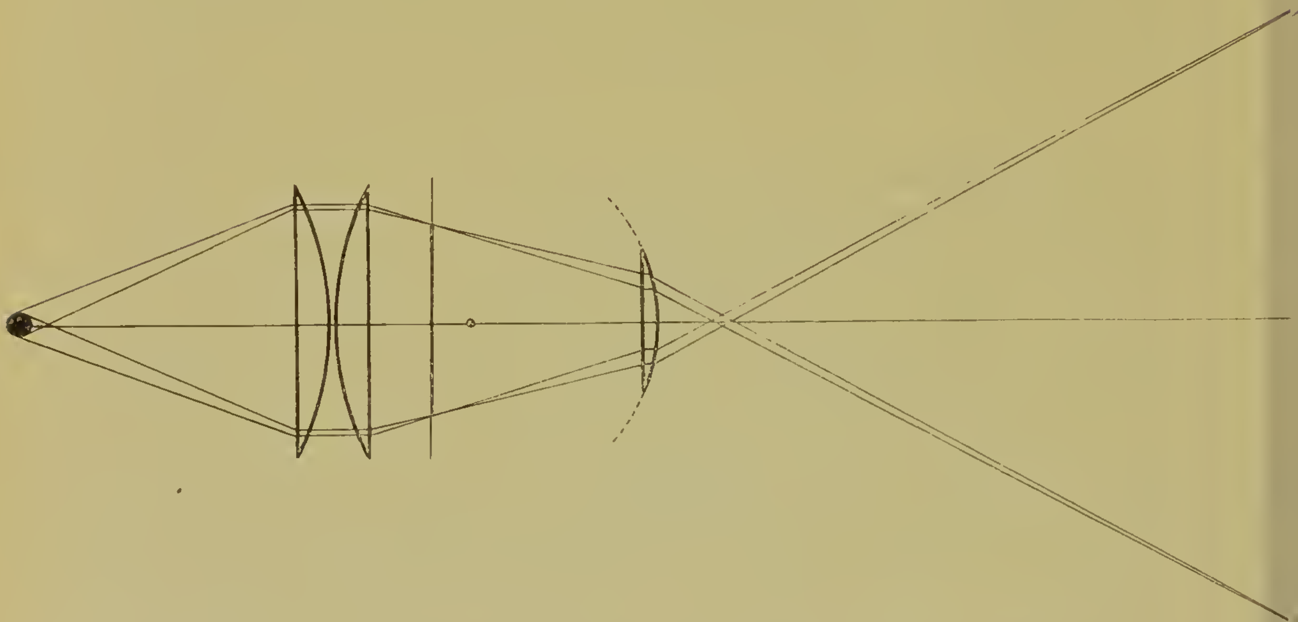
Da eine einfache Linse immer mit verschiedenen, die Deutlichkeit beeinträchtigenden Zeichen- und Farbenfehlern projicirt, wird dieselbe bei der

Projektion durch ein korrigirtes Objektiv ersetzt, das je nach der Homocentricität des Lichtes einen verschiedenen Grad der optischen Korrektur besitzen muss, und oft als photographisches Objektiv aus zwei gleichen, zu beiden Seiten der Blendenebene (alle Blenden fallen fort) symmetrisch gelagerten Linsen, bezw. Einzelobjektiven besteht.

Die Art der Anwendung der Dioptrik in der Projektion hängt von der Grösse und Beschaffenheit der Gegenstände derselben ab. Diese sind mehr oder weniger durchsichtige Abbildungen, die Schatten werfen und geeignete Objekte selbst.

Die Projektion der ersteren Art liefert Skiagramme in weiterem oder engerem Sinne, je nachdem auch Halbschatten wiedergegeben werden und wird nach den am häufigsten verwendeten photographischen Diaphanien Diapositiv-Projektion genannt. Dieselbe vollzieht sich, wie schon oben dargelegt, vermittelst zweier optischer Systeme, die konaxial ineinandergreifen,

Fig. 120.



eines Durchleuchtungssystems aus Lampe, Beleuchtungslinsen, Lichtknotenpunkt und Bildschirm bestehend, und eines dioptrischen Projektionssystems, das aus Gegenstand, Objektiv und Bildschirm besteht. Von der üblichen Projektion dieser Art giebt Fig. 120 eine Darstellung des Ganges der Lichtstrahlen in der Mitte und an der Peripherie ihres Verlaufs. Vor einer Lichtquelle von kleiner Ausdehnung stehen zwei plankonvexe Beleuchtungslinsen, die das divergirende Licht erst parallelisiren und dann durch das Diapositiv nach dem Lichtknotenpunkt konvergiren, vor dem ein Objektiv einerseits auf das Diapositiv, andererseits auf den (in der Figur wenig) fernstehenden Bildschirm eingestellt ist.

Fig. 120 zeigt insbesondere die Funktion des Objektivs in der Wiedervereinigung der Lichtstrahlen am Bildschirm, die sich an einzelnen Punkten des Diapositivs vorbei unter einem geringen, theils durch die Ausdehnung der Lichtquelle, theils durch die bedeutende sphärische Abweichung der Beleuchtungslinsen bedingten Winkel nach dem Schirm hin fortpflanzten. ferner die mittelst des Objektivs bezwungene Verbreitung des Lichtknoten-

punktes, welche durch die unvollkommene Homocentricität des projicirenden Lichtes bedingt ist und schliesslich die Verlegung des Objektivs vom Lichtknotenpunkt hinweg, die es auch als Brennglas wirken lässt

Durch die Verlegung des Objektivs nach innen von dem Lichtknotenpunkt wird dieser, wie ersichtlich, ebenfalls nach innen verlegt und infolge dessen die Bildvergrösserung erhöht. Das Objektiv übernimmt hiermit die geometrische Projektion, die es fortan beherrscht. Durch Verstellungen des Objektivs dem Lichtknotenpunkt gegenüber passt sich das Objektiv an verschiedene räumliche Verhältnisse an, und zwar innerhalb Grenzen, welche durch seine Brennweite und diejenige der Beleuchtungslinsen gegeben sind. Bei derselben Bildvergrösserung und Abstand des Objektivs vom Diapositiv, wird, wenn die Lampe den Beleuchtungslinsen genähert wird, der Lichtknotenpunkt über das Objektiv hinaus verlegt. Diese Annäherung bewirkt gleichzeitig eine vermehrte Helligkeit des projicirten Bildes und eine Ausfüllung der Objektivöffnung, die u. a. alle Fehler der Centrirungen verringert und das Objektiv vor gefährlicher lokaler Erhitzung schützt. Hierbei findet sich empirisch leicht durch Verschiebung der Lampe ein Optimum der Helligkeit, bei dem der Lichtgewinn an der ersten Beleuchtungslinse dem Lichtverlust an der zweiten infolge auftretender Divergenz zwischen beiden die Waage hält.

Die Brennweite der Objektive für die Diapositiv-Projektion kann schon aus dem Grunde gleich der einer einzelnen der identischen, stark gewölbten Beleuchtungslinsen sein, da infolge der sphärischen Lichtabweichung erst bei einer Einstellung der Lampe etwas innerhalb der Brennweite der ihr nächstliegenden Linse das von dieser peripher ausgehende Licht axenparallel ist, worauf sodann die Hauptmasse der Lichtstrahlen erst ausserhalb der Brennweite der zweiten Linse zusammenfallen. Es wird somit im konvergenten Lichtkegel immer Raum für das Diapositiv und das Objektiv, insofern als die Brennweiten des Objektivs und der Beleuchtungslinsen nicht allzu sehr differiren. Die Brennweite steigt zweckmässigerweise von 18 Cm. bis 32 Cm., je nach der Grösse des Diapositivs und dem Abstand des Bildschirms.

Die Korrektur eines für die Projektion geeigneten Objektivs betrifft bei annähernd punktförmigen Lichtquellen fast allein die Farbenfehler und die Distorsion. Die ersteren werden durch alle achromatischen Objektive, die letztere durch alle Doppelobjektive beseitigt. Für die Projektion von Diapositivbildern im Format 9 × 12 Cm., welche geradlinige Gegenstände in grösserer Ausdehnung im Bilde darstellen, ist ein Doppelobjektiv erforderlich. Objektive mit sehr vollkommener sphärischer Korrektion, wie die für die Momentphotographie, sind nur dort vortheilhaft, wo flächenhafte Lichtquellen benutzt werden; sie bedingen sonst infolge der vermehrten Glasflächen Reflexe und Lichtverlust.

Für die Durchleuchtung von Diapositiven unter Benutzung von annähernd punktförmigen, wie auch von mehr ausgedehnten Lichtquellen erweisen sich zwei gleiche plankonvexe Linsen, deren gewölbte Seiten einander nicht ganz berühren, aus verschiedenen Gründen zweckentsprechend. Für diesen Zweck bestimmte Fabrikate kennzeichnen sich dadurch, dass ihre Durchmesser im Mittel ²/₃ ihrer Brennweite für paralleles Licht, nach der üblichen Formel F/1,5, beträgt. Der Durchmesser der Linsen wird in erster Reihe durch die Grösse der projicirten Diapositive bestimmt. Für das sich einbürgernde deutsche Format von 9 × 12, bezw. 12 × 12 Cm. sind Linsendurchmesser von 16 Cm., für das englische von 8,5 × 8,5 Cm. solche von 10 Cm. nothwendig. Noch ehe der konvergente Lichtkegel sich merklich verkleinert hat, wird das Diapositiv quer in den Gang der Strahlen gestellt.

Der Abstand der Beleuchtungslinsen von der Lichtquelle wird durch zwei entgegengesetzte Momente bestimmt, nämlich 1. die Aufnahme des Lampenlichtes unter zulässig grösstem Kegelwinkel, der sich bei der Annäherung von Linsen mit der oben angegebenen Oeffnung von F/1,5 zunehmend rasch vergrössert, 2. die Gefahr eines Bruches der dicken Glaskörper durch plötzliches einseitiges Erhitzen, die mit der Nähe derselben an der Lichtquelle verbunden ist. Bei der Anwendung grösserer Beleuchtungslinsen erzielte Miethe vermittelst eines vorgelagerten dünnen Konvexmeniskus einen genügenden Schutz gegen Hitze und ferner eine weitere Ausbeutung des Lichtes der Lampe, die nach Feststellungen seitens Neuhauss das $2^1/_2$—3fache derjenigen mittels 2linsiger Kondensoren beträgt.

Die Objekte, welche selbst der Projektion dienen, theilen sich der Grösse nach in makroskopische und mikroskopische. Der Zweck der Projektion ist hierbei entweder ein photographischer oder ein unmittelbar demonstrativer.

Projektionsfähige makroskopische Objekte sind durchsichtig und undurchsichtig. Undurchsichtige und bei kleinem Umfang auch durchsichtige Objekte werden mit Vortheil nur dann verwandt, wenn Diaphanabbildungen derselben, namentlich photographische Diapositive nicht zweckmässig, bezw. farbenrichtig sind. In allen Fällen erfordern sie die stärkste Beleuchtung, sowie auch weit vollkommenere Objektive als die Diapositiv-Projektion, da sie nur einen kleinen Bruchtheil des auffallenden Lichtes, und zwar zerstreut reflektiren. Die Projektion ist dann eine rein dioptrische. Zur Herstellung einer genügenden Helligkeit des projicirten Gegenstandes hat man bisher allein Linsensysteme angewandt, die wie bei der Diapositiv-Projektion nur etwa 4—6% des Lampenlichtes aufnehmen. Im Zeiss'schen Epidiaskop dagegen wird ein sphärischer Hohlspiegel koncentrisch zur negativen Kohle einer Bogenlampe und in bestimmte Nähe zur ringförmigen Flamme gestellt, der die Erzielung starken parallelen Lichts und eine gleichmässige Beleuchtung, bezw. Durchleuchtung der Objekte gestattet.

Mikroskopische Objekte müssen, um genügend helle Bilder abzugeben, durchsichtig sein. Eine bedeutende Durchsichtigkeit des Objekts und die Benutzung einer starken Lichtquelle verlangen schon schwach mikroskopische Objektive und lassen dann nnr eine mässige Linearvergrösserung erzielen.

Für die Beleuchtung mikroskopischer Objekte kann man mit Vortheil eine einfache Halbkugellinse mit vorliegender, abstufbarer Blende benutzen, die es gestattet, den Oeffnungswinkel des Lichtkegels immer kleiner als denjenigen des benutzten Objektivs zu halten.

Vermittelst der Blende wird die Linse zum Theil vor Hitze geschützt und auch das Strukturbild im Gegensatz zum Farben-, bezw. Schattenbild des Objekts zur deutlichen Projektion gebracht. Einen besonderen Wärmeschutz bietet eine der Linse vorgelagerte schwache Eisenchloridlösung. Von der Halbkugellinse aus lässt sich das stärkste Licht auf kurze Zeit unmittelbar auf ein Präparat mit geringer Erhitzung verwenden, wenn durch eine geeignete Blende am Mikroskop das auffallende Licht auf das Sehfeld eingeschränkt wird. Die grösste Verstärkung des Lichtes von ausgedehnteren nicht punktförmigen Lichtquellen wird ohne unmässige Vergrösserung des Lichtöffnungswinkels durch die Verwendung eines spitzkelch-, bezw. katenitförmigen Spiegels von passender Grösse und Oeffnung erzielt. Zu demselben Zweck ist ein Trichter mit geraden Seitenwänden nur dann zulässig, wenn der Lichtkegelwinkel verbreitert werden darf. Die denkbar grösste und vollkommenste Ausnutzung einer Lichtquelle zur Beleuchtung wird durch elliptische Hohlspiegel gegeben.

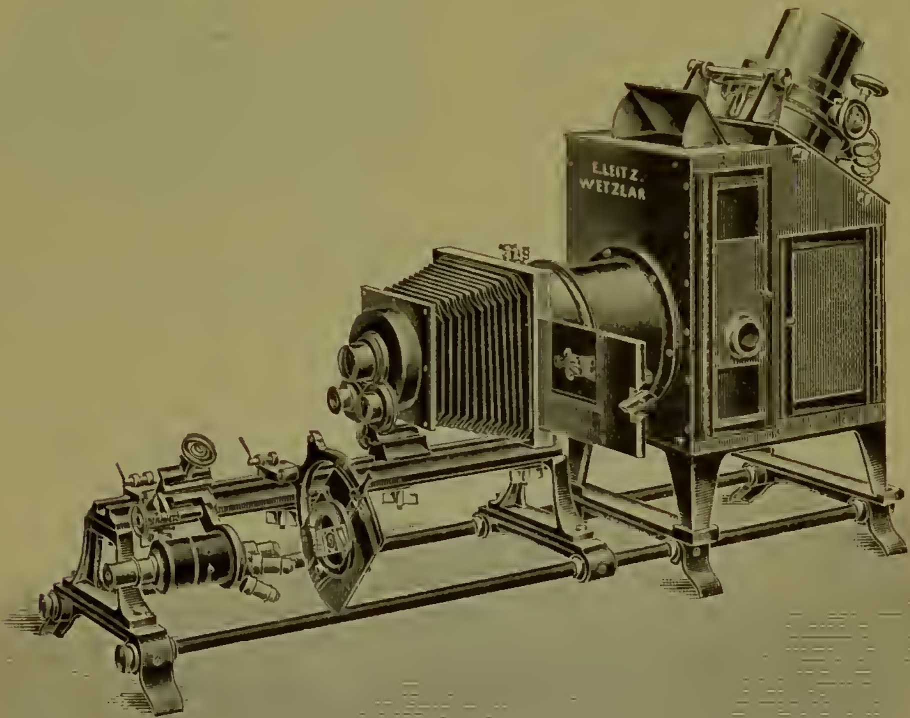
Die Projektion mikroskopischer Objekte zur Demonstration liess sich mit den bisherigen Hilfsmitteln, insbesondere unter Anwendung von starkem

elektrischem Bogenlicht, nur vermittelst schwacher, mitunter auch mittelstarker Objektive ausführen und bei Anwendung von Präparaten mit genügend hellen Partien, um eine unmässige Verdunkelung des Zimmers zu vermeiden, nur für kleinere Räumlichkeiten ausreichend verwerthen.

Zeichnungen auf durchsichtigen Schichten, wie Gelatine (von Fritsch für Konstruktionen und schematische Darstellungen benutzt), bilden statt Diapositive einen oft vortheilhaften Ersatz für Originalvorführungen. Zum Gebrauch bei der Projektion von mikroskopischen Objekten wie von Diapositiven, namentlich aber für den raschen Uebergang von der einen zur anderen, sind dreitheilige Beleuchtungslinsen mit Einstellvorrichtung für die dritte Linse vortheilhaft. Nach diesem Plan ist der Projektionsapparat mit optischer Bank von Leitz gebaut (Fig. 121).

Für die mikrophotographische Projektion in Fällen, wo es sich hauptsächlich um ein Schattenbild bei schwacher Vergrösserung handelt, ist die

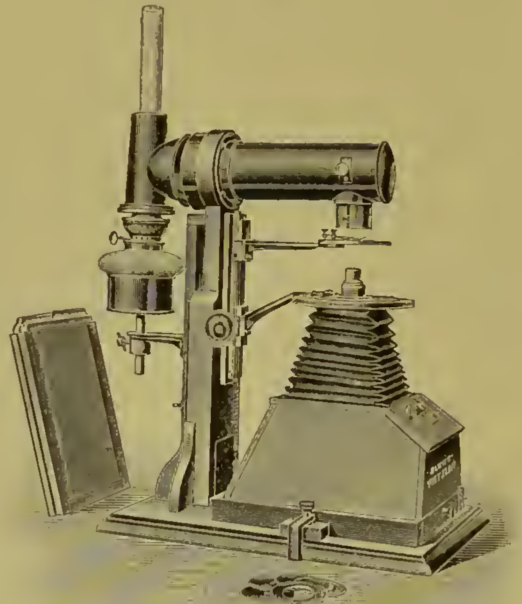
Fig. 121.



Benutzung einer starken annähernd punktförmigen Lichtquelle empfehlenswerth, wie z. B. einer elektrischen Bogenlampe mit dünnen Kohlen und wenig Stromverbrauch. Solche Fälle bietet die Mikrophotographie bewegter Gegenstände (z. B. Puls, Stimmgabelschwingungen u. a. m.), auf senkrecht dazu bewegter Platte hinter einem Spalt, auf den die Grenzlinie zwischen Licht und Schatten fällt, im wahren Sinne eine Kinematographie. Um das übliche mikroskopische Beugungsbild der Objekte voll auszunutzen, muss der Oeffnungswinkel des Beleuchtungskegels annähernd so gross, aber immer etwas kleiner als derjenige des Objektivs sein, jedoch mit Rücksicht namentlich auf die überaus grosse sphärische Abweichung für schiefes Licht aller Richtungen, für die das Objektiv bestkorrigirt sein muss, empfiehlt es sich, im Gegensatz zu der Diapositiv-Projektion (die sich annähernd homocentrischen gleichmässigen Lichtes bedient) bei der Projektion von Objekten ein starkes Ueberwiegen der central durchgehenden Strahlen, auf denen das

Strukturbild hauptsächlich beruht, herbeizuführen, und zwar in einfacher Weise durch die Anwendung nicht punktförmiger Lichtquellen und die Abblendung von oder der Verzicht auf naheliegende kugelförmige Beleuchtungsapparate.

Fig 122.

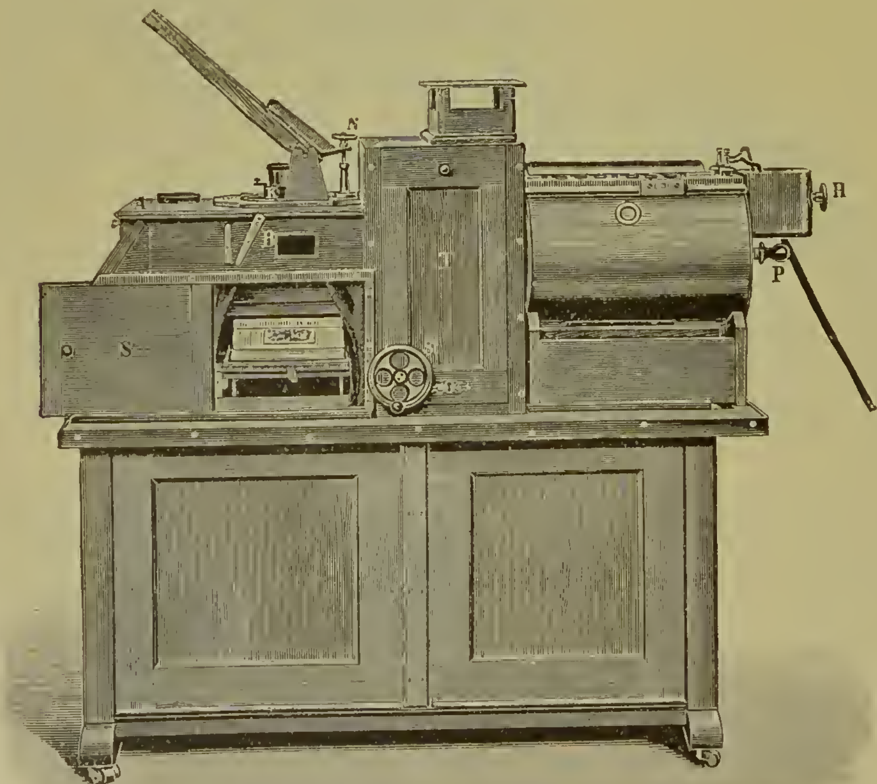


Besondere Apparate für die Vertikal Projektion grösserer mikroskopischer Präparate sind die Konstruktionen von EDINGER in zweierlei Ausführung für die Mikrophotographie und für das mikroskopische Zeichnen (s. »Zeichnen«) (Fig. 122).

Zur Demonstration von makroskopischen Objekten mit elektrischem Licht wurde die Camera obscura in verschiedener Weise, von DU BOIS-REYMOND namentlich für durchsichtige, von STRICKER namentlich für undurchsichtige Objekte ausgebildet.

Das von ZEISS (Jena) konstruirte Epidiaskop vereinigt beiderlei Art Projektion in gleich vollkommenem Masse. Mit demselben können 22 Cm. breite Gegenstände 9—14mal, kleinere Objekte mehr als doppelt soviel vergrössert werden (Fig. 123). Der Projektionsapparat für grosse undurchsichtige oder in der Aufsicht abgebildete durchsichtige Objekte, bezw. für

Fig. 123.



Diapositive von SEIBERT (Wetzlar) ist einem zweiten ZEISS'schen im wesentlichen gleich und fordert gegenüber dem Epidiaskop eine weit kleinere Stromstärke für die elektrische Bogenlampe, sowie keine Kühlwasserleitung (Fig. 124). Ein neuer Apparat von SCHMIDT und HAENSCH (Berlin) erfüllt mittels Prismengitter ähnliche Erfordernisse. Noch kompendiösere Apparate für die

Projektion undurchsichtiger Objekte stellt LIESEGANG (Düsseldorf) her. Eine Reihe Projektionsapparate verschiedener Grösse und Einrichtung genügen den Bedürfnissen der Diapositiv-Projektion allein, sie enthalten in der Mehrzahl der Fälle die SCHUCKERT'sche Bogenlampe. LECHNER (Wien) baut einen grossen Apparat, der den Vorzug einer Asbestauskleidung besitzt. Die Apparate von RUDOLPH-WINKEL (Göttingen) (Fig. 125) und von MEISSL (Berlin) zeichnen

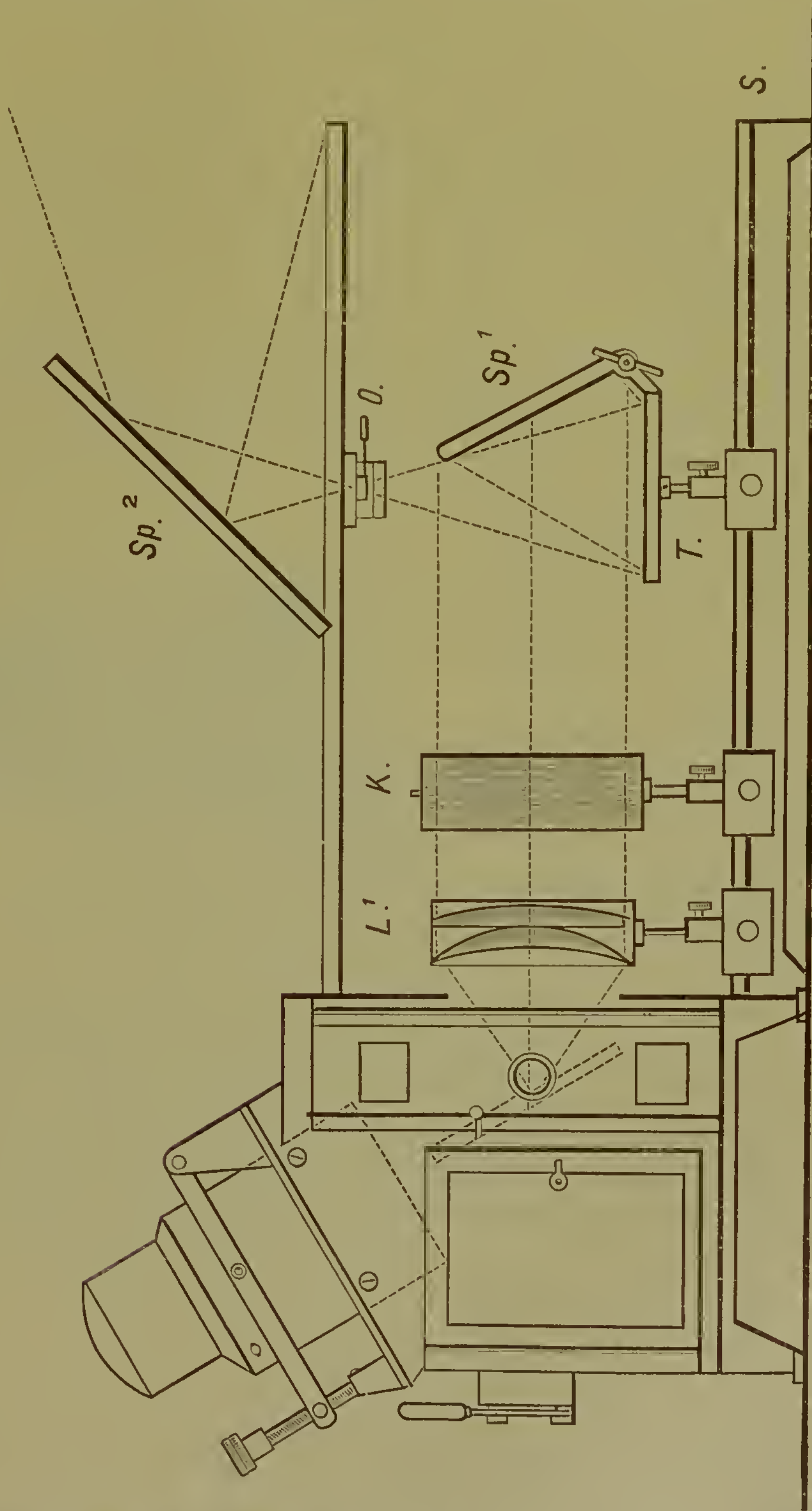


Fig. 124.

sich u. a. durch Eleganz und handliche Einstellgriffe für die Kohlen der elektrischen Lampe aus. Für Auer-, Kalk- und Bogenlicht baut OEHMKE (Berlin) Wechselapparate.

Projektionskinematographen stellt HESEKIEL (Berlin) her. Um die Projektion mit Benzin-Kalklicht zu vervollkommnen und gefahrlos zu machen, haben sich die Sauerstoffwerke TH. ELKAN (Berlin) erfolgreich bemüht; eine besonders starke Petroleumlampe nebst drei-

theiligem Lichtkondensor, einen zweckmässigen Kalklichtbrenner und zerlegbare Schirmgestelle haben Unger & Hoffmann (Dresden) eingeführt. Ein Auerlicht ohne Glascylinder giebt das dauerhafte Mantelgewebe von Butze (Berlin).

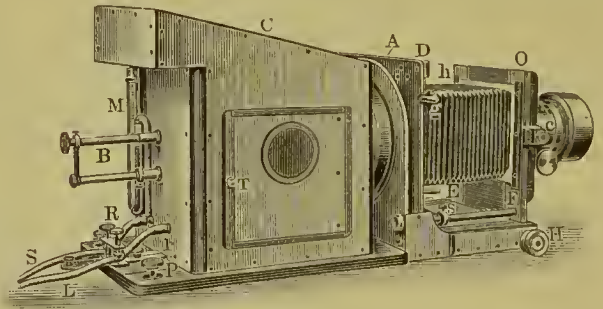
Die Ausführung der Projektion ist vielfach mit einer Ablenkung der Aufmerksamkeit vom Apparat verbunden und erfordert eine vorherige wiederholte Einübung namentlich deswegen, weil man mit elementaren Kräften unter sonst ungewöhnlichen Umständen zu thun hat. Es erhitzt sich z. B. das Lampengehäuse fast immer stark und kann erwünschte Handgriffe erschweren. Namentlich durch Unterlassung einer allmählichen Vorwärmung kann eine Beleuchtungslinse zerspringen, eine Wasserkühlküvette, bezw. eine Kühlwasserleitung undicht werden Bei dem Gebrauch des elektrischen Bogenlichtes kann ein Kurzschluss einer Netzleitung mit hoher Spannung zumal in der Nähe von entzündbarem Material entstehen, bei der Projektion von kinematographischen Celluloidfilms dieselben in Brand gerathen.

Ganz besonders am Platze ist die Befolgung erhaltener Vorschriften bei der Verwendung von leicht flüchtigen Kohlenwasserstoffen, wie auch von hochprocentigem Sauerstoff, der die Brennbarkeit von allen mit demselben durchsetzten oxydirbaren Körpern oft ungeahnt erhöht. Eine Quelle von Störungen bildet der Uebergang von der Projektion mikroskopischer Objekte zu der von Diapositiven, der die bequemsten und darum sichersten Vorkehrungen erfordert.

Auch der Uebergang von einem zum anderen Diapositivformat benöthigt neben dem sonstigen Auswechseln der Bilder besondere Hilfsmittel, sowohl für die Schnelligkeit, als auch die Sicherheit der Handhabung im verdunkelten Projektionsraum.

Behrens brachte z. B. am Apparat von Rudolph-Winkel an den Diapositivschieberrahmen zwei Drehscheiben an, die das Einsetzen von zwei Bildern in zwei verschiedenen Formaten, die auch rasch hoch oder quer zu stellen sind, gestatten. Müller fügt vier solche Drehscheiben für verschiedene Bildformate in eine grosse Drehscheibe ein. Lechner bewirkt das oft lästige Herausnehmen der Bilder aus dem Diapositivrahmen durch Federn, die das Herausheben des schon projicirten Bildes erleichtern. Petzold schiebt die Bilder hintereinander längs einer Nuth, die zu beiden Seiten des vor den Beleuchtungslinsen stehenden Rahmens verlängert ist. Für jedes Bildformat kommt vorzugsweise der einfache Rahmen zur Verwendung. Schmidt und Haensch verfertigen mehrfache Rähmchen für jedes Bildformat, die sammt Diapositiv in einem am Apparat feststehenden Rahmen ein- und ausgewechselt werden. Im allgemeinen wurden bisher Schieberrahmen mit einzelnen Fächern bis zu vier hintereinander, je zwei für Hoch- und Querformat der Diapositive benutzt.

Fig. 125.



Der Bildschirm besteht vorzugsweise aus weissem baumwollenen Gewebe, das weniger hygroskopisch als Leinen ist und sich länger rein hält. Eine wenig vornüber geneigte Schirmwand nimmt wenig Staub auf. Ein Anstrich von weissem Zaponlack, der das Gewebe ausfüllt und undurchsichtig macht, erhöht in merklichem Grad die Helligkeit der Bilder.

Für kleine Schirme genügt dickes weisses Papier. Ganz ebene, dauerhafte, vortrefflich reflektirende Flächen bieten Gyps- und Kalkwände; beiderlei Rohmaterial lässt sich in bewegliche Rahmen giessen und glätten.

Cowl, Berlin.

Litteratur: Vgl. R. Neuhaus. (Lehrbuch der Projektion. 1901.)

Prosobranchier, siehe Mollusken.

Prostata. Die Zusammensetzung der Prostata bringt mancherlei Schwierigkeiten für ihre histologische Bearbeitung mit sich. Vor allem ist es der starke Gehalt an Muskulatur und Bindegewebe, der eine sehr sorgfältige Einbettung erfordert, wenn man dünne Schnitte erhalten will. Auch erhält nicht jedes Fixationsmittel die Struktur der Muskulatur und des Epithels gleich gut. Nach den neuesten Untersuchungen von Walker empfiehlt sich zur Fixation des Epithels Flemming'sche Flüssigkeit, 5%ige

Sublimatlösung und vor allem eine 3%ige wässerige Lösung von Kaliumbichromat mit 5% Essigsäure; für die Muskulatur dagegen eignet sich mehr Zenker'sche Flüssigkeit und 5—7%iges Formol. Für die Totalfixation aller Theile leistet Sublimat das Meiste.

Regnault empfiehlt für das Studium der Muskulatur vor allem 90%igen Alkohol mit einem Zusatz von 10% Ameisensäure. Die in der Prostata sehr häufig auftretenden Konkremente können die Untersuchung nicht unwesentlich erschweren.

Zur färberischen Differenzirung der einzelnen Elemente eignet sich die van Gieson-Färbung in ganz hervorragender Weise, auch Eisenhämatoxylin mit Rubinnachfärbung liefert sehr gute Bilder.

Für das Studium der Entwicklung der Prostata geben Hundeembryonen ein vorzügliches Material ab.

Litteratur: Walker (Arch. Anat. 1899), Regnault (Journ. de l'anat. phys., Jahrg. 28, 1892), Stilling (Virchow's Arch., Bd. 98, 1884), Griffith (Journ. of Anat. Phys., Bd. 23, 1889).

Protagon findet sich in weiter Verbreitung im Nervensystem, vor allem in dem Myelin der Markscheiden. Es ist in Alkohol und Aether nur schwer löslich und bildet mit viel Wasser eine opalescirende Flüssigkeit. Es ist sehr leicht zersetzlich und liefert dabei Fettsäuren, Glycerinphosphorsäure und Zucker.

Mit Osmiumsäure schwärzt es sich nicht, auch nicht nach vorheriger Chromsalzbehandlung. Nach Wlassak beruht das Zustandekommen der Weigert'schen Markscheidenfärbung hauptsächlich auf der Anwesenheit des Protagons im Myelin.

Litteratur: Wlassak (Arch. Entwickl., Bd. 6, 1898).

Protamine siehe Zellchemie.

Proteïnstoffe und -krystalle siehe Eiweissstoffe in Pflanzenzellen.

Proteolytische Enzyme siehe Enzyme.

Protozoa. Zunächst einige Angaben über die Gewinnung der besonders für den Anatomen und Physiologen wichtigen, allgemein bekannten Formen. Amöben kann man sich leicht aus jedem Tümpel verschaffen. Man findet sie in dem mit Pflanzendetritus gemischten Schlamm, in dem Schleim der sich an der Unterseite der Nymphaeenblätter ansetzt, ferner in dem Oscillarienfilz, der sich oberhalb des Wasserspiegels in Glasaquarien ansetzt (Häcker). Reich an Amöben sind ferner die Seewasseraquarien. Ein Tropfen der den Boden bedeckenden rothbraunen Massen enthält neben zahllosen Infusorien immer zahlreiche Amöben. Man kann sie auch gewinnen, wenn man algenreiches Wasser wochenlang in der Sonne stehen lässt, bis es übelriechend wird. Ausserordentlich reich an Rhizopoden ist der Sphagnumrasen der Torfmoore, ferner das feuchte Felswände überziehende Moos. Die durch Auspressen solcher Massen gewonnenen Thiere kann man in grösseren, mit Flusswasser gefüllten Schalen längere Zeit lebend erhalten. Um Amöben zu isoliren stellt man das Gefäss an einen warmen Ort. Die Thiere kommen dann an die Oberfläche und das darunter befindliche Schmutzwasser kann abgelassen werden. Schaudinn (94) legt Deckgläser abends in die Aquarien ein und findet sie dann morgens mit Amöben besetzt.

Unter den Sporozoen kann man vor allem leicht Gregarinen gewinnen aus dem Darm zahlreicher Insekten, wie z. B. der Küchenschabe und des Mehlwurms (Gregarina blattarum und polymorpha).

Heliozoen (Actinosphaerium) finden sich meist mit Infusorien zusammen in gut bewachsenen Torfgräben und Tümpeln. Unter den Flagellaten trifft man Euglena besonders in den Frühjahrsmonaten fast in jedem Tümpel,

seltener das koloniebildende Dinobryon. Von den parasitischen Flagellaten kann man Megastoma häufig im Kaninchendarm antreffen. Man muss die Darmzotten zerzupfen, um die Thiere zu gewinnen. Ciliate Infusorien kann man in bekannter Weise aus Heuinfusen gewinnen. Man übergiesst eine Portion Heu in einem recht hohen Glascylinder mit Flusswasser und lässt sie tage- und wochenlang an der Sonne stehen, dann findet man in Massen Colpidium und Glaucoma. Nach 1—3 Wochen ist Colpidium am reichlichsten vorhanden, nach 5—6 Wochen verschwindet es und an seine Stelle tritt Chilomonas.

Aus jeder übelriechenden Pfütze kann man Paramecium erhalten und in einer Heuabkochung züchten. Die Thiere bilden hier eine zusammenhängende Haut auf der Flüssigkeit. Um in grösseren Aquarien Infusorien zu züchten, empfiehlt WADDINGTON, in dieselben kleine Zwiebackstückchen an Konfervenfäden aufzuhängen. Es findet dann um dieselbe herum eine reiche Vegetation statt, in der die Infusorien prächtig gedeihen. Den viel benutzten Stentor findet man in gut bewachsenen Tümpeln ausserordentlich häufig an den Stengeln von Wasserpflanzen sitzen, an welchen seine Kolonien einen weissen Pflaum bilden. Er lässt sich sehr leicht züchten und ist in Bezug auf die Güte des Wassers nicht sehr wählerisch. Am bequemsten erhält man ihn, wenn man einen Aufguss auf Schlamm und faulende Blätter vom Grunde von Wassertümpeln macht. Man erhält dann neben Stentor noch Spirostomum und zwar zeigen sich beide abwechselnd in grossen Mengen. der eine kommt, wenn der andere geht und umgekehrt. Sehr empfindlich dagegen sind die schönen Vorticellen, die sich an den gleichen Lokalitäten wie die vorigen finden. Ein anderer bequemerer Fundort für Infusorien ist die Froschoberhaut. Setzt man frisch gefangene oder auch schon längere Zeit in Gefangenschaft gehaltene Frösche in ein Glas mit reinem Wasser, so werfen sie bekanntermassen die oberflächlichsten Epidermisschichten sehr bald ab. Auf diesen Epidermisfetzen nun wird man immer sehr reichliche Infusorien (Paramecium, Stylonichia etc.) finden. Ein sehr leicht zu erhaltendes, grosses Infusor ist auch die im Enddarm des Frosches schmarotzende Opalina.

Bei der Lebenduntersuchung der Protozoen macht die grosse Beweglichkeit besonders der ciliaten Infusorien Schwierigkeiten. Man kann dieselben auf verschiedene Weise hemmen. Einmal kann man in den die Thiere beherbergenden Flüssigkeitstropfen ein Stückchen ganz feinmaschiger Gaze, sehr feine Leinwand oder ausgezupftes Filtrirpapier legen. die Thiere sind dann in den einzelnen Maschen eingeschlossen und lassen sich bequemer beobachten. Ein anderes Mittel besteht darin, dass man die Thiere in ein zähflüssiges Liquidum bringt. Zu diesem Zwecke empfiehlt JENSEN 0,5—3 %ige Gelatinelösungen, die man sich am besten aus dem Wasser, in dem die Thiere leben, bereitet. Dünnere Lösungen verlangsamen die Bewegungen der Thiere beträchtlich, ohne sie sonst irgendwie zu alteriren. So vermehrt sich Paramecium in einer 5 %igen Lösung noch sehr stark. EISMOND (90) setzt dem die Thiere enthaltenden Wasser zu demselben Zweck Kirschgummi zu. Schliesslich kann man auch narkotische Mittel zur Lähmung der Thiere verwenden, z. B. Cocain (0,1 ‰), Antipyrin (1 ‰), Strychnin (0,1 ‰), Eserinsulfat (0,1 ‰).

Zahlreiche Fütterungsversuche sind mit Farbstoffen schon an Infusorien angestellt worden (EHRENBERG, MAX SCHULTZE, BRANDT). Um den Lauf dieser Körper durch den Organismus des Thieres festzustellen, hat man gefärbte, unlösliche Substanzen benutzt, z. B. fein geschlemmten Karmin oder Indigo.

Zur Lebendfärbung der Infusorien, die wohl gleichzeitig zuerst von BRANDT und CERTES ausgeführt worden ist, haben die verschiedensten Anilinfarben neben pflanzlichen Farbstoffen Verwendung gefunden. BRANDT benutzt Lösungen von Bismarckbraun von $^1/_{3000}$—$^1/_{5000}$, ausserdem sehr dünne

Lösungen von Alaunhämatoxylin. CERTES empfiehlt Chinoleïnblau ($^1/_{25000}$), PRSHESMIZKY Methylenblau, Dahlia Violett 5 B, Chrysoidin, Nigrosin und Jodgrün in Lösungen von $^1/_{10000}$—$^1/_{100000}$, PROWAZEK Neutralroth, SCHÜRMAYER Malachitgrün. Die mit Methylenblau gefärbten Thiere kann man einfach in Sublimat fixiren und dann in Glycerin konserviren. Ueber die Resultate, d. h. das, was sich bei dieser vitalen Färbung tingirt, sind die Angaben sehr verschieden. Nach BRANDT und CERTES färbt Bismarckbraun nur die Fettkörner, Hämatoxylin dagegen den Kern, und man kann durch Kombination beider vitale Doppelfärbung erzielen. Nach SCHÜRMAYER färbt Malachitgrün die lebende Zelle. (Siehe auch Artikel Färbungen, vitale.)

Früher hat man Protozoen ausschliesslich als Totalpräparate konservirt in Kaliumacetat, Glycerin, Nelkenöl (besonders von CATTANEO empfohlen) oder Balsam. In neuerer Zeit dagegen hat man sie auch vielfach nach Einbettung in Paraffin als Schnittpräparate verarbeitet. Natürlich macht die Einbettung so kleiner Präparate nicht unerhebliche Schwierigkeiten. Vor allem gilt es, die Organismen in grösserer Zahl beisammen zu haben. Man kann zu diesem Zweck alle Manipulationen des Fixirens, Auswaschens, Färbens, Entwässerns und Einbettens in einem unten spitz zulaufenden Reagensrohr vornehmen, indem man eventuell mit Hilfe der Centrifuge vor jeder Manipulation die Thiere absetzen lässt. Nach dem Erstarren des Paraffins zerschlägt man das Rohr und hat die Thiere dann an der Spitze des Paraffinblockes zusammen. HOYER verwendet statt des Reagensglases kleine Glasröhren, die an einem Ende mit Pergamentpapier verschlossen sind. Man braucht dann nicht das Glas zu zersprengen, sondern entfernt einfach das Papier und stösst den Paraffinblock durch. Noch bequemer ist das SCHAUDINN'sche Mikroaquarium (94) zu diesem Zweck. In einen Objektträger lässt man sich an einer Längsseite einen dreieckigen Ausschnitt machen. Indem man nun auf der Ober- und Unterseite je ein Deckglas mit Fischleim aufkittet, erhält man einen kleinen dreieckigen Spaltraum, in den man die in Alkohol befindlichen Thiere bringt. Einfüllen von absolutem Alkohol, Intermedium und Paraffin. Dann legt man in Wasser, das Paraffin erstarrt, gleichzeitig lösen sich die Deckgläser los und der Block wird frei. RYDER filtrirt die Infusorien durch ganz dünne (0,05 Mm.), mit dem Mikrotom hergestellte Hollundermarkscheibchen. Er legt die letzteren auf ein komprimirtes Filtrirpapierpaket und bringt das Infusorienwasser tropfenweise auf das Plättchen auf. Die die Thiere in so grosser Zahl enthaltenden Scheibchen können dann als Ganzes fixirt, gefärbt, entwässert, eingebettet und mikrotomirt werden.

Von den speciellen für die verschiedenen Klassen und Ordnungen der Protozoen angegebenen Methoden seien die folgenden genannt:

Rhizopoden: SCHAUDINN (93) empfiehlt für marine Rhizopoden Fixation in einem Gemisch von 1 Theil konc. Sublimats und 2 Theilen absoluten Alkohols, für Amoeba crystalligera (94) eignet sich besser heisses konc. Sublimat HERMANN'sche Flüssigkeit oder Pikrinschwefelsäure, für Amoeba binucleata (95) eine Mischung von 2 Theilen konc. Sublimats und 1 Theil absol. Alkohols. Die mit den Thieren besetzten Deckgläser (s. oben) werden in die Fixationslösung für ungefähr 10 Minuten eingelegt, dann in Wasser oder Alkohol ausgewaschen, in Hämatoxylin, Brasilin oder nach der FLEMMING'schen Dreifachmethode gefärbt. ZOGRAF fixirt Rhizopoden 2—4 Minuten in 0,2%iger Osmiumsäure und überträgt dann für 10 Minuten in zehnfach verdünnten rohen Holzessig, SCHEWIAKOFF ganz kurze Zeit in FLEMMING'scher Flüssigkeit. Nach RHUMBLER leistet der 96%ige Alkohol zur Fixation kalkschaliger Foraminiferen mehr als FLEMMING'sche Flüssigkeit, SCHAUDINN (95) fixirt Calcituba in 1%iger Osmiumsäure oder einem Gemische von 1 Theil konc. Sublimats und 2 Theilen absol. Alkohols und entkalkt in schwach salz-

saurem Alkohol R. HERTWIG (76) fixirt Miliola mit 0,1—0,5%iger Chromsäure und färbt mit BEALE'schem Karmin. Derselbe (79) fixirt Radiolarien mit 0,1%iger Osmiumsäure 2—3 Minuten, wäscht gut aus und färbt wie oben. BORGERT fixirte Radiolarien (Aulacantha) mit konc. Sublimat mit 20—30% Essigsäure, auch gleiche Theile FLEMMING'scher Flüssigkeit und Eisessig leisten gute Dienste, verursachen jedoch Schrumpfung der äusseren Form. Färbung mit Salzsäurekarmin, Alkohol, Nelkenöl. In letzterem präparirt man die Centralkapsel mit feinen Nadeln heraus und bereitet dann für die Paraffineinbettung vor. KARAWAIEW bringt das gleiche Objekt zuerst in gleiche Theile Flemming und Eisessig, dann mehrere Tage in reine FLEMMING'sche Flüssigkeit. BRANDT (85) fixirt Heliozoen entweder in einem Gemisch von 1 Theil 70%igen Alkohols, 1 Theil Meerwasser und Jodtinktur bis zur deutlichen Gelbfärbung oder in 0,5—1%iger Chromsäure oder in Fluorwasserstoffsäure oder in 5—15%igem Sublimat in Seewasser. Bei letzterem wird zuerst in See-, dann in Süsswasser ausgewaschen, bei den anderen gleich in Süsswasser. 0,1%ige Osmiumsäure eignet sich auch ganz gut, erhält aber hauptsächlich nur die Form. BRAUER erhielt bei Actinosphaerium mit konc. Sublimat, SASSAKI bei Gymnosphaera mit Pikrinessigsäure die besten Resultate.

Infusorien: Das klassische Fixationsmittel für Infusorien ist die Osmiumsäure entweder in wässeriger Lösung von 0,5—2% oder in Dampfform. CERTES (79) stülpt den Objektträger mit dem die Thiere enthaltenden minimalen Flüssigkeitstropfen rasch um und legt ihn auf eine etwas weithalsige Flasche mit 2%iger Osmiumsäure. Nach einer Einwirkung von mehreren Minuten bedeckt man das Präparat mit einem Deckglas und setzt an den Rand einen Tropfen der Färbeflüssigkeit, die besteht aus gleichen Theilen Wasser und Glycerin mit 1% Pikrokarmin. Die verdunstende Lösung muss durch neue ersetzt werden. Den Objektträger legt man am besten in die feuchte Kammer. Ist nach einigen Tagen die Lösung eingedrungen und sind die Thiere gefärbt, so saugt man ab und ersetzt durch Drittelglycerin. KORSCHELT und RIMSKY-KORSAKOW verwenden 1%ige, SAND 2%ige Osmiumsäure. Der letztere wäscht in schwach ammoniakalischem Wasser und bringt die Thiere unter das Deckglas in folgende Färbeflüssigkeit: Wasser 80, 90%igen Alkohol 10, Glycerin 10, Eisessig 2, Methylgrün 0,5 Grm. Die verdunstende Flüssigkeit wird vom Deckglasrand her durch Glycerin ersetzt. Auch Osmiumgemische finden vielfach Verwendung, vor allem die FLEMMING-sche Flüssigkeit, so DOFLEIN für Kentrochonopsis und LAUTERBORN für Flagellaten. SCHEWIAKOFF saugt die Thiere mit möglichst wenig Wasser in eine Kapillare ein und bringt dieselbe für einen Moment in FLEMMING'sche Flüssigkeit oder 1%iges Osmium. Nach den ALTMANN'schen Granulamethoden sind die Infusorien von PRSHESMIZKY und METZNER bearbeitet worden. Der letztere fixirt die in ganz dünner Schicht auf dem Deckglas ausgebreitete, die Thiere enthaltende Darmflüssigkeit in einem Gemisch von 7 Theilen konc. Osmiumlösung in 1,5%iger Kochsalzlösung (es lösen sich ca. 5,5%) und 1 Theil konc. wässeriger Bichromatlösung, dem man vor dem Gebrauch auf 12 Ccm. 2—4 Tropfen rauchender Salpetersäure zusetzt. Nach 2 Minuten überträgt man sie für weitere 10—20 Minuten in die gleiche Lösung ohne Salpetersäure, dann auswaschen in mehrfach gewechseltem destillirten Wasser, entwässern und färben mit Säurefuchsin nach ALTMANN.

Neben der Osmiumsäure wird dann in neuerer Zeit vor allem das Sublimat verwendet, das wohl für diesen Zweck zuerst DU PLESSIS benutzt hat. Er setzte dem Präparat einen Tropfen 2‰igen Sublimats zu, liess eintrocknen und färbte mit Cochenilletinktur oder wässeriger Lösung von Nachtblau. ZOJA übergiesst die Thiere in der Uhrschale mit der 3—4fachen Menge konc. Sublimatlösung, lässt 15 Minuten stehen und bringt die Thiere mit der Pipette zuerst in Wasser, dann in steigenden Alkohol, Xylol und

Paraffin. Nach BUNDLE ist konc. Sublimat das beste Mittel für die Erhaltung der Wimpern. HOYER fixirt Colpidium in einer Mischung von 1 Theil 5%igen Sublimats und 3 Theilen 3%igen Bichromats, giesst das Material in das mit der Lösung gefüllte Reagensrohr und lässt im Laufe einer Stunde absetzen, dann auswaschen mit Wasser, bis sich dasselbe nicht mehr gelb färbt, mittels einer Pipette, steigender Alkohol, Xylol, Paraffin. LONGHI setzt zu 10 Ccm. einer 1,1%igen Lösung von Eserinsulfat 1 Tropfen einer 1%igen Sublimatlösung.

Für schmarotzende Infusorien aus dem Magen grösserer Thiere empfehlen EBERLEIN und GÜNTHER Sublimatalkohol nach SCHAUDINN. Auch für Gregarinen ist die Sublimatfixation von GAULLEY und MESNIL bevorzugt worden. Von anderen Fixationsmitteln seien hier noch folgende erwähnt:

CATTANEO lobt ausserordentlich Palladiumchlorid, Goldchlorid und Cadmiumchlorid in 1—3%iger wässeriger Lösung. Auch Kaliumquecksilberjodid (1—2%) und Silbernitrat (0,5—1%) gaben ihm gute Resultate. PFITZNER tödtet die Thiere unter dem Deckglas ab, indem er um den Rand desselben mittels des Pinsels einen Wall von konc. Pikrinsäure zieht. Lässt man das Präparat mehrere Tage in der feuchten Kammer liegen, so sind die Thiere fixirt. Dann wird vorsichtig Wasser durchgesaugt, bis die Thiere farblos sind, Alaunkarmin oder Hämatoxylin zugesetzt und wiederum mehrere Tage in die feuchte Kammer gelegt, dann auswaschen, durchsaugen von steigendem Alkohol, Nelkenöl, Xylol, Balsam. Pikrinschwefelsäure benutzt BLANC (100 Theile konc. Pikrinsäure, 2 Theile Schwefelsäure und 600 Theile Wasser). Wenn Gelbfärbung eingetreten, wird in 80%igem Alkohol ausgewaschen, dann 96%iger Alkohol und färben in Safranin (5 Grm. Safranin in 150 Ccm. absol. Alkohols lösen, einige Tage stehen lassen und mit 75 Ccm. Wasser verdünnen), auswaschen in Alkohol, Nelkenöl, Balsam. ZOJA fixirt mit absol. Alkohol und färbt dann 18 Stunden mit Biondilösung, EISMOND empfiehlt Chromessigsäure und RIMSKY-KORSAKOW 40%iges Formol, das die Form sehr gut erhalten soll.

Zur Sichtbarmachung der Cilien ist nach FOL Eisenchlorid ein bisher unübertroffenes Mittel. Er verdünnt die Tinct. Ferri perchlorati der englischen Pharmakopoe mit dem 5—10fachen Volum 70%igen Alkohols. WADDINGTON setzt neben den Tropfen mit den Thieren einen Tropfen 25%ige Tanninlösung in Glycerin. Sobald die Tropfen zusammenfliessen, erstarren die Cilien, während die Thiere noch weiter leben. Zu dem gleichen Zweck setzt SCHEWIAKOFF dem Präparat 2 Tropfen einer 3—5%igen Sodalösung zu und lässt 1/4—1/2 Stunde offen stehen.

Litteratur: STEIN (Der Organismus der Infusionsthiere, Leipzig 1859), BÜTSCHLI (Protozoen in BRONN's Klassen und Ordnungen des Thierreiches, Leipzig 1880—1882), KIRSCHNER und BLOCHMANN (Die mikroskopische Pflanzen- und Thierwelt des Süsswassers, Braunschweig 1885), HÄCKER (Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre, Jena 1899), SCHAUDINN (Sitz. Preuss. Ak. Wiss., Bd. 38, 1894; WADDINGTON (Journ. Roy. micr. Soc., 2, Bd. 3, 1883), JENSEN (Biol. Centr., Bd. 12, 1892), EISMOND (Zool. Anz., Bd. 13, 1890), BRANDT (Biol. Centr., Bd. 2, 1881), CERTES (Zool. Anz., Bd. 4, 1881), PRSHESMIZKY (Arb. Zool. Lab. Univ. Warschau, 1894), PROWAZEK (Zeit. wiss. Zool., Bd. 62, 1897), SCHÜRMAYER (Jena. Zeit. Nat., Bd. 24, 1890), CATTANEO (Boll. scient., 1883), SCHAUDINN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), RYDER (Amer. Nat., Bd. 29, 1895), HOYER (Arch. mikr. Anat., Bd. 54, 1899), SCHAUDINN (Zeit. wiss. Zool., Bd. 57, 1893), derselbe (ebenda, Bd. 59, 1895), ZOGRAF (Compt. rend., Bd. 124, 1897), SCHEWIAKOFF (Morph. Jahrb., Bd. 13, 1887), RHUMBLER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 52, 1891), R. HERTWIG (Jena. Zeit. Nat. Bd. 9 u. 10, 1876), derselbe (Der Organismus der Radiolarien, Jena 1879), BORGERT (Zool. Jahrb., Bd. 14, 1900), BRANDT (Fauna und Flora des Golfes von Neapel, Bd. 13, 1885), KARAWAIEW (Zool. Anz., Bd. 18, 1895), BRAUER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 58, 1894), SASSAKI (Jena. Zeit Nat., Bd. 28, 1893), CERTES (Compt. rend., Bd. 88, 1879), KORSCHELT (Zool. Anz., Bd. 5, 1882), RIMSKY-KORSAKOW (Biol. Centr., Bd. 17, 1897), SAND (Ann. Soc. Belge Micr., Bd. 24, 1899), DOFLEIN (Zool. Jahrb., Bd. 10, 1897), LAUTERBORN (Zeit. wiss. Zool., Bd. 59, 1895), METZNER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 70, 1901), DU PLESSIS (VOGT und YUNG, Handbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie, Bd. 1, Braunschweig, 1888), BLANC (Zool. Anz., Bd. 6, 1883), ZOJA (Boll. scient., 1892/1893), BUNDLE

(Zeit. wiss. Zool., Bd. 60, 1895), Longhi (Boll. Mus. Zool. Comp Genova, 1892), Eberlein (Zeit wiss. Zool., Bd. 59, 1895), Günther (ebenda, Bd. 65, 1899), Gaulley und Mesnil (Arch. d'Anat. micr., Bd. 3, 1900), Pfitzner (Morph. Jahrb., Bd. 11, 1886), Fol (Lehrb. der vergleichenden mikroskopischen Anatomie, Leipzig 1896).

Pteropoden siehe Mollusken.

Ptyalin siehe Enzyme.

Pulmonaten siehe Mollusken.

Purpurin (Trioxyanthrachinon, $C_6 H_4 (CO)_2 . C_6 H(OH)_3$), neben dem Alizarin in der Wurzel von Rubia tinctorum (Krapp) enthalten, lässt sich künstlich aus Alizarin durch Oxydation (Erhitzen mit Braunstein und Schwefelsäure) oder durch Schmelzen der Alizarinpurpursulfosäure mit Kali gewinnen. Zur Reinigung wird es aus heisser Alaunlösung, worin das Alizarin fast unlöslich ist, mehreremale umkrystallisirt. Es bildet (mit 1 Molekül H_2O) lange orangegelbe oder (wasserfrei) kleine rothe Nadeln. Seine Lösung in Alkali ist violett, aber nicht lichtecht, wohl ist dies jedoch die Verbindung mit Thonerde.

Mikrotechnisch ist es bisher fast nur zur Färbung der Kerne gebraucht worden: Ranvier löst es in wässeriger Alaunlösung, Grenacher in Alaun, der zu 1—3% in Glycerin gelöst ist. Nach Mayer ist die Färbung nicht stark genug. — Als Reagens auf unlösliche Kalksalze in den Geweben benutzen es Grandis und Mainini, indem sie die Schnitte 5—10 Minuten lang mit einer koncentrirten alkoholischen Lösung von Purpurin färben, auf einige Minuten in Normalsalzwasser bringen, gründlich mit Alkohol auswaschen und in Balsam untersuchen. *Mayer*, Neapel.

Pyrenin siehe Zellchemie.

Pyrenoid siehe Chromatophoren.

Pyridin, $C_5 H_5 N$, ein Benzol, bei dem eine CH-Gruppe durch das Stickstoffatom ersetzt ist, wird aus den flüchtigen Antheilen des Theers gewonnen und stellt eine farblose, höchst unangenehm riechende Flüssigkeit dar von stark alkalischer Reaktion und dem specifischen Gewichte 0,980 bei 15°. Siedepunkt bei 116,7°. Es ist in Wasser, Alkohol und Aether leicht löslich und ähnelt in seinem chemischen Verhalten dem Ammoniak, ist auch wie dieses ein gutes Lösungsmittel für Fette.

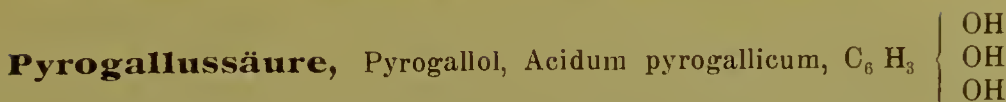
de Souza hat das Pyridin als Härtungs-, resp. Fixationsmittel für das Nervensystem empfohlen. Es härtet, entwässert und hellt auf zu gleicher Zeit. Gehirne kleinerer Thiere werden nach einem Verweilen von 8 Tagen in Pyridin, am besten im Brutschrank, völlig gehärtet und entwässert. Die Form wird gut erhalten, die Färbbarkeit ist ebenfalls gut, doch leidet nach unserer Erfahrung, wohl durch die starke Alkalescenz des Mittels, die Zellstruktur ganz erheblich.

Auch zum Härten von Gefrierschnitten ist das Pyridin von Goodall empfohlen worden, er entwässert sie nach der Färbung ebenfalls in Pyridin und schliesst in Pyridinbalsam ein.

Nach Andriezen soll ein Gemisch von gleichen Theilen Xylol und Pyridin sich sehr gut zum Aufhellen von Golgipräparaten eignen. Die Schnitte werden nicht spröde und die Grundsubstanz dunkelt nicht so stark nach.

Nach Mayer ist jedoch diese Mischung für gefärbte Schnitte weniger geeignet, da sie viele Anilinfarben auszieht.

Litteratur: de Souza (C. r. Soc. Biol., 8, Bd. 4, 1888), Goodall (Brit. med. Journ., 1893), Andriezen (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 10, 1893), Mayer (Lee und Mayer, pag. 61).



Pyrogallussäure, Pyrogallol, Acidum pyrogallicum, $C_6 H_3 \left\{ \begin{matrix} OH \\ OH \\ OH \end{matrix} \right.$ entsteht durch Erhitzen von Gallussäure und bildet farblose Nadeln, die sich zu ca. 60% in Wasser zu einer farblosen, neutral reagirenden Flüssigkeit lösen. Auch in Alkohol und Aether ist sie leicht löslich. Die wässerige Lösung färbt sich unter dem Einfluss von Licht und Luft braun und nimmt dabei durch Bildung von Essigsäure saure Reaktion an. Die Pyrogallussäure ist ein energisches Reduktionsmittel; aus den Salzen des Goldes, Silbers und Quecksilbers scheidet sie die Metalle ab. Auf ihrer Reduktionswirkung beruht ihre Anwendung als photographischer Entwickler. Eisenchloridlösung färbt sich unter Bildung von Eisenchlorür mit Pyrogallussäure roth und nach Neutralisation mit Calciumkarbonat blau.

Von der reducirenden Kraft der Pyrogallussäure wird in der Mikrotechnik vielfach Gebrauch gemacht bei der Nachbehandlung von Präparaten, die mit Eisenchlorid, Osmiumsäure, Silbernitrat oder Goldchlorid behandelt worden sind. Man kann zu diesem Zwecke wässerige oder alkoholische Lösungen benutzen.

Pyronin, das Chlorid des Tetramethyl- (Pyronin G) oder Tetraäthyldiamidodiphenylkarbiddrioxyds (Pyronin B) (Elberfeld). Grünglänzende Krystalle, die in Wasser und Alkohol mit rother Farbe und gelber Fluorescenz löslich sind. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure hellorange, mit Natronlauge entsteht eine blassrothe Fällung.

Nach Ehrlich eignet sich das Pyronin als basischer Farbstoff zur Herstellung von neutralen Farbgemischen, z. B. in Verbindung mit Narceïn und Methylgrün oder Narceïn und Methylenblau. Pappenheim benutzt es in Verbindung mit Methylgrün zur Färbung basophiler Elemente.

Litteratur: Ehrlich und Lazarus (Die Anämie in Nothnagel: Specielle Pathologie und Therapie, Bd. 8, Wien 1898), Pappenheim (Virch. Arch., Bd. 157, 1899).

Pyrosin B, Syn. für Erythrosin.

Pyroxylin, Schiessbaumwolle, wird gewonnen durch Behandlung von Baumwolle mit einer Mischung von Salpeter- und Schwefelsäure. Je nach der Art der Einwirkung entstehen verschiedene Produkte. Man hat zu unterscheiden zwischen der in Alkohol und Aether unlöslichen Schiessbaumwolle und dem in einem Gemenge von Aether und wenig Alkohol löslichen Pyroxylin. Die Lösung heisst Kollodium, das, auf die Haut gebracht, durch Verdunsten des Aethers eine fest anhängende Schicht abgiebt.

Ein besonders frei von Beimischungen hergestelltes lösliches Pyroxylin stellt das Celloidin dar (siehe dort). *Mosse,* Berlin.

Q.

Quecksilber und **Quecksilberverbindungen** haben vom Sublimat abgesehen in der mikroskopischen Technik keine ausgedehnte Verwendung gefunden.

Das metallische Quecksilber, Hg, ist von silberweisser Farbe, hat starken Metallglanz, bei 0° das spec. Gew. 13,59, siedet bei 357° und verflüchtigt sich schon bei — 13°. Das Quecksilber geht zwei Reihen von Ver-

bindungen ein, die als Mercuro- und als Mercurisalze bezeichnet werden oder als Oxydul- und als Oxydverbindungen; in den ersteren tritt es ein-, in den zweiten zweiwerthig auf. So ist Hg_2O Mercurooxyd oder Quecksilberoxydul, HgO Mercurioxyd oder Quecksilberoxyd. Die Oxydulverbindungen werden von Oxydationsmitteln in Oxydverbindungen, die Oxydverbindungen von Reduktionsmitteln in Oxydulverbindungen übergeführt.

Entsprechend der Verwendung in der Mikrotechnik sind hier ausser dem Sublimat (das an besonderer Stelle abgehandelt wird) und dem Quecksilbercyanid (siehe Cyanquecksilber und Nervenfaser, Axencylinder) nur folgende Verbindungen zu erwähnen:

Hydrargyrum oxydatum, Quecksilberoxyd, rothes Präcipitat, HgO, gelblich-rothes, in Wasser nur wenig, in verdünnter Salz- und Salpetersäure leicht lösliches Pulver, das in der praktischen Medicin ziemlich viel angewandt wird. Dieselben Lösungsverhältnisse zeigt das gelbe Präcipitat, das Hydrargyrum oxydatum via humida paratum, $Hg(OH)_2$.

Beide Salze sind von Harris zum Hämatoxylin zugesetzt worden, um es zu oxydiren (vergl. pag. 515). Es wird 1 Grm. krystallisirtes Hämatoxylin in 10 Grm. absoluten Alkohols gelöst, ebenso 20 Grm. von Kalium- oder Ammoniumalaun unter Erwärmen in 200 Ccm. Aq. dest. Zu der Mischung beider Lösungen wird 0,5 Grm. Quecksilberoxyd, rothes oder gelbes, hinzugefügt; die Mischung wird zum Sieden erhitzt, dann schnell abgekühlt. Die dunkelrothe Flüssigkeit kann alsbald zum Färben benutzt werden.

Das metallische Quecksilber selbst hat Jückuff bei Untersuchungen über die Verbreitungsart subkutan beigebrachter, mit den Gewebssäften nicht mischbarer Flüssigkeiten im thierischen Organismus verwandt, und zwar benutzte er ein Quecksilberamalgam des Wood'schen Metalls, das aus 4 Th. Wismuth, 2 Th. Blei und je 1 Th. Zinn und Cadmium besteht und dessen Schmelzpunkt von 60,5° durch den Zusatz des Quecksilbers herabgesetzt wird.

Litteratur: Siehe Cyanquecksilber und Sublimat. Ferner Harris (Mikr. Bull., 1898), Jückuff (Arch. experim. Pathol., Bd. 32). *Mosse*, Berlin.

Quittenschleim wird erhalten aus den Samen von Cydonia vulgaris und stellt eine dicke, farblose Flüssigkeit dar. Von Born und Wieger ist er zum Aufkleben von Paraffinschnitten empfohlen worden. Man verdünnt 2 Theile Schleim mit 1 Theil Glycerin, setzt etwas Karbolsäure zu und rührt gut durch. Die Mischung wird in dünner Schicht auf den sorgfältig gereinigten Objektträger aufgetragen und mit Wasser überschichtet. Nach 20 Minuten langem Verweilen im Brutschrank sind die Schnitte fest. Nachdem das Paraffin durch Terpentinöl gelöst ist, müssen die Objektträger $^1/_2$ Stunde in absolutem Alkohol verweilen, um den Schleim zu fällen. Der Schleim färbt sich nicht mit, löst sich aber in ammoniakalischen oder alkalischen Farblösungen. Man vermeide den Uebergang aus starkem Alkohol direkt in Wasser, da sich sonst leicht die Schnitte ablösen.

Litteratur: Born und Wieger (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885).

R.

Räderthiere. Die Hauptschwierigkeit in der mikrotechnischen Bearbeitung der Rotatorien beruht auf dem Umstand, dass die Thiere bei der leisesten Berührung oder dem Zusatz differenter Flüssigkeiten sofort ihren Kopftheil mit dem Wimperapparat einziehen, sich zu formlosen Massen zusammenballen und so zur mikroskopischen Beobachtung unbrauchbar werden. Diesem Uebelstand kann man auf verschiedene Weise abhelfen, einmal durch mechanische Mittel, indem man z. B. dem Wasser nach und nach Zuckersyrup zusetzt (Hardy) oder die Thiere mittels irgend eines Mittels narkotisirt oder schliesslich sie durch momentanes, blitzartiges Abtödten am Zurückziehen verhindert. Unter den narkotisirend wirkenden Mitteln steht das Cocaïn obenan. Weber, Plate und Conser benutzen 2%ige Lösungen, de Zograf setzt den in wenig Wasser befindlichen Thieren tropfenweise 1%ige Lösungen zu. Rousselet mischt 3 Th. 2%igen Cocaïns, 1 Th. 90%igen Alkohols und 6 Th. Wasser und setzt von dieser Mischung dem die Thiere enthaltenden Wasser so lange zu, bis die Cilien nicht mehr schlagen. Nach Gast erweist sich für Apsilus das Cocaïn wirkungslos. Hofer empfiehlt das Hydroxylamin in 0,1%iger Lösung, 10—15 Minuten, nachdem man die Thiere in diese Lösung eingesetzt hat, sind sie bewegungslos. Vogt und Yung benutzen zur Abtödtung der Rotatorien Strychnin, Volk Wasserstoffsuperoxyd. Er setzt auf 1—3 Ccm. Wasser ungefähr 1 Tropfen einer 3%igen Lösung von Wasserstoffsuperoxyd zu. Man soll niemals stärkere Lösungen, als unbedingt nöthig, wählen.

Bei vorsichtiger Anwendung einzelner dieser Mittel, vor allem des Cocaïns, leben die Thiere, wenn man sie in frisches Wasser bringt, weiter, man kann sie deshalb auch zur Lebendbeobachtung benutzen.

Um die Thiere in ausgestrecktem Zustand zu fixiren, bringt sie Lenssen (Hydatina) mit ganz wenig Wasser in die Höhlung eines ausgeschliffenen Objektträgers, übergiesst sie rasch mit einigen Tropfen fast bis zum Sieden erhitzter Sublimatessigsäure und senkt den Objektträger sofort in eine Schale mit kaltem Wasser. Gast benutzt (für Apsilus) in ähnlicher Weise Sublimatalkohol oder Pikrinsublimatessigsäure.

Von anderen Fixationsmitteln empfiehlt Zelinka Sublimat oder er fixirt ½—1 Stunde im Dunkeln in 1%igem Goldchlorid und reducirt dann im Licht in ½%iger Ameisensäure. Hofer fixirt in Pikrinessigsäure, de Zograf setzt zu den durch Cocaïn narkotisirten Thieren eine ziemlich grosse Menge 0,2%iger Osmiumsäure, saugt die Flüssigkeit nach 1—2 Minuten wieder ab und ersetzt sie durch eine reichliche Menge von 10%igem rohen Holzessig. Rousselet giebt zu den nach seiner Methode gelähmten Thieren 1 Tropfen Flemming'sche Flüssigkeit oder 0,25%ige Osmiumsäure und wäscht dann

sofort in mehrfach gewechseltem Wasser aus. Conser fixirt mit 20%igem Formol und behandelt dann mit 0,5%iger Chromsäure.

Meistens wird man nach eventueller Färbung die Thiere als Totalpräparate aufhellen und in Balsam montiren. Man muss dabei mit dem Entwässern und Aufhellen recht vorsichtig vorgehen, um Schrumpfungen zu vermeiden. Gast empfiehlt zu diesem Zweck über reines Nelkenöl verschiedene Alkohol-Nelkenmischungen, dann obenauf reinen absoluten Alkohol zu schichten und die entwässerten Thiere in den letzteren einzulegen. So findet eine ganz allmähliche Durchtränkung statt. Rousselet hebt die Thiere in 6%igem Formol auf.

Man kann aber auch die Thiere sehr wohl in Paraffin einbetten und schneiden (Lenssen).

Embryologisches: Jennings empfiehlt zur Fixirung der trächtigen Weibchen Flemming'sche Flüssigkeit, Lenssen koncentrirtes Sublimat, beides nur Bruchtheile einer Minute. Da die erstere Flüssigkeit zu stark schwärzt, muss man in diesem Fall nach einer der bekannten Methoden bleichen, dann die Eier unter dem Mikroskop frei präpariren und in Glycerin konserviren.

Litteratur: Hardy (Journ. Roy. micr. Soc., 1889), Weber (Arch. Biol., Bd. 8, 1888), Plate (Zeit. wiss. Zool., Bd. 49, 1889), Conser (Trans. Amer. Micr. Soc., Bd. 17, 1896), de Zograf (Compt. rend., Bd. 124, 1897), Rousselet (Journ. Quekett Micr. Club, 2, Bd. 6, 1895), Gast (Zeit. wiss. Zool., Bd. 67, 1900), Hofer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Vogt und Yung (Lehrbuch der praktischen vergleichenden Anatomie, Braunschweig 1881), Volk (Zool. Anz., Bd. 19, 1896), Lenssen (Cellule, Bd. 14, 1898), Zelinka (Zeit. wiss. Zool., Bd. 14, 1889), Jennings (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard., Bd. 30, 1896).

Radiolarien siehe Protozoen.

Raffinose siehe Zucker in pflanzlichen Geweben.

Raphiden siehe Calciumverbindungen in Pflanzenzellen.

Raspail'sche Reaktion siehe Eiweissstoffe in Pflanzenzellen.

Rauracienne, Syn. für Echtroth.

Rauschbrandbacillus. Bacillus anthracis symptomatici, Bacillus sarcophysematos bovis (Kitt). Der Rauschbrandbacillus färbt sich in Deckglaspräparaten gut mit den gebräuchlichen wässerigen Farblösungen, wie Gentiana- und Methylviolett, Fuchsin, sowie auch mit dem Löffler'schen Methylenblau. Besonders schöne Bilder erzielt man nach Kitt durch Doppelfärbung mit Eosin und Gentiana, wobei das serös-blutige Substrat rosaroth gefärbt wird, während die Bacillen tiefblau erscheinen und die Sporen als ungefärbte stark lichtbrechende Körper deutlich hervortreten. Nach der Gram'schen Methode entfärben sich die Rauschbrandbacillen. Wenn man aber die Farbe lange einwirken lässt, oder eine sehr intensive Farblösung anwendet, so zeigen die Rauschbrandbacillen nach Kutscher ebenfalls die Fähigkeit, sich nach Gram zu färben. Die Färbung der Sporen gelingt verhältnissmässig leicht nach den bekannten Methoden für Sporenfärbung. Die Geisseln färbe man nach der von Löffler angegebenen Methode der Geisselfärbung. Für Schnittfärbung hat Kitt die Löffler'sche Tinktionsmethode empfohlen.

Litteratur: Kitt (Centr. Bakt., Bd. 1, 1887), Löffler (ebenda, Bd. 7, 1890).

Künnemann, Breslau.

Rekonstruktion siehe Plastische Rekonstruktion.

Reservecellulose siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Resorcin, $C_6H_4\left\{\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix}\right.$, entsteht durch Schmelzen von Benzoldisulfosäuren mit Natronhydrat und stellt farblose, bei 112° schmelzende und in Wasser,

Alkohol und Aether leicht lösliche Nadeln dar von neutraler Reaktion. Mit Eisenchlorid giebt es eine violette Färbung. Das Resorcin des Handels enthält meistens kleine Mengen Phenol und Thioresorcin. Es ist von den drei isomeren Dioxybenzolen (Brenzkatechin und Hydrochinon) das am wenigsten giftige. Das Resorcin spielt in der Farbtechnik eine grosse Rolle, mit Phtalsäureanhydrid erhitzt liefert es Fluoresceïn, mit Wasserstoffsuperoxyd in ammoniakalischer Lösung Resorcinblau. Weigert hat durch Kochen von Resorcin und Fuchsin in wässeriger Lösung mit Eisenchlorid einen Farbstoff für elastische Fasern dargestellt und Michaelis hat gezeigt, dass man ähnliche Farbstoffe erhält, wenn man bei diesem Process entweder das Fuchsin durch andere basische Farbstoffe oder ungefärbte aromatische Basen oder das Resorcin durch andere Phenole (Orcin, Pyrogallol, Orthokresol) ersetzt. Das Eisenchlorid spielt dabei nur die Rolle eines Oxydans und kann durch beliebige andere Oxydationsmittel ersetzt werden.

In der Mikrotechnik ist das Resorcin von Unna und seinen Schülern in ausgedehnter Weise als Entfärbungsmittel für Methylenblaupräparate benutzt worden entweder in 5%iger wässeriger oder in 1%iger alkoholischer Lösung. Nach Ihl ist das Resorcin ein gutes Reagens auf Lignin, das letztere wird von einer alkoholischen Lösung auf Zusatz von Salz- oder Schwefelsäure blauviolett gefärbt.

Litteratur: Weigert (Centr. allgem. Path., Bd. 9, 1898), Michaelis (Deutsch. med. Woch., 1901), Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 13, 1891), derselbe und van der Speck (ebenda), Ihl (Chemikerzeitung, 1885).

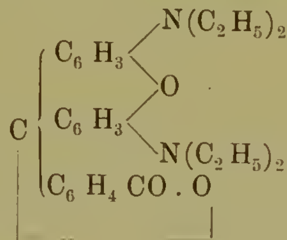
Resorcinblau, Syn. für Lakmoid.

Resorcingelb, Syn. für Chrysoin.

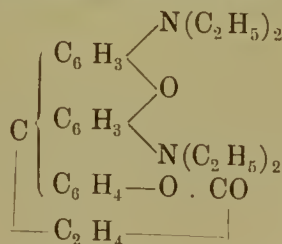
Retina siehe Sehorgan.

Rhizopoden siehe Protozoen.

Rhodamin. Unter dem Namen der Rhodamine fasst man eine Gruppe von rothen Farbstoffen basischer Natur zusammen, welche die Phtaleïne des Metamidophenols und seiner Derivate darstellen. Die beiden wichtigsten sind das Rhodamin B (Ludwigshafen),



grüne Krystalle, die in Wasser und Alkohol leicht mit blaurother Farbe löslich sind. Die Lösungen zeigen starke Fluorescenz. In Schwefelsäure mit gelbbrauner Farbe löslich. Salzsäure fällt aus der wässerigen Lösung grüne Krystalle, Natronlauge rothe Flocken. Rhodamin S (Ludwigshafen, Elberfeld)



krystallinisches Pulver, das in Wasser und Alkohol leicht mit rother, in Schwefelsäure mit gelber Farbe löslich ist. Die Rhodamine erzeugen auf Wolle, Seide und Baumwolle sehr lichtechte und lebhaft rothe Färbungen.

In der Mikrotechnik hat das Rhodamin bis jetzt nur eine sehr geringe Verwendung gefunden. ROSEN benutzt es zur Doppelfärbung mit Methylenblau in wässeriger Lösung.

Litteratur: ROSEN (COHN's Beiträge, Bd. 5, 1892).

Rhodankalium, Kalium sulfocyanatum, Schwefelcyankalium, CN . SK, bildet sich beim Zusammenschmelzen von Schwefel und Cyankalium. Farblose, hygroskopische Krystalle, die sich in Wasser und Alkohol in jedem Verhältniss lösen. Seine Eigenschaft, mit Eisenoxydsalzlösungen das intensiv roth gefärbte Eisenrhodanid zu bilden, macht es zu einem sehr empfindlichen Reagens auf jene Salze.

Von STIRLING ist eine 10%ige wässerige Lösung als Macerationsmittel für Epithelzellen empfohlen worden.

Litteratur: STIRLING (Journ. of Anat. Phys., Bd. 17, 1883).

Rhodophycaten. Zur Fixirung wird empfohlen FLEMMING'sches Gemisch in folgender Zusammensetzung: 1%ige Chromsäure 30 Ccm., 1%ige Essigsäure 5 Ccm., 1%ige Osmiumsäure 5 Ccm. — alles in Meerwasser. Vergl. auch pflanzliche Kerntheilung.

Litteratur: DAVIS (Ber. deutsch. bot. Ges., Bd. 16, 1898). *Magnus*, Berlin.

Ribesin siehe Pflanzenfarbstoffe.

Riechorgan siehe Nase.

Rinder- und Wildseuchebacillus. Bacillus bovi septicus. Der Bacillus der Wildseuche färbt sich leicht mit den gebräuchlichen wässerigen Anilinfarbstofflösungen. Nach der GRAM'schen Methode werden die Bacillen der Wildseuche entfärbt. Schnittpräparate färbt man nach den bekannten Methoden. *Künnemann*, Breslau.

Ripart und Petit'sche Flüssigkeit siehe Kupferacetat.

Rizinusöl, Kastoröl, Oleum Ricini, aus den Samen von Ricinus communis, einer ostindischen Euphorbiacee, gewonnen. Dickflüssiges, fast farbloses Oel, rechts drehend, specifisches Gewicht bei 15° 0,9615, Brechungsexponent 1,481. In absolutem Alkohol ist es in jedem Verhältniss, in 90%igem Alkohol zu 20—25% löslich.

Das Rizinusöl hat in der Mikrotechnik mannigfache Verwendung gefunden, so als Einschlussmittel an Stelle von Glycerin, als Klebemittel mit Kollodium zusammen (pag. 698), zur Herstellung des künstlichen Hollundermarks (pag. 539), zur Injektion mit nachfolgender Osmiumbehandlung und Korrosion (nach ALTMANN [pag. 603]).

Roccellin, Syn. für Echtroth.

Rohrzucker (Saccharose) siehe Zucker in pflanzlichen Geweben, siehe auch Plasmolyse.

Rosanilin siehe Fuchsin.

Rosazurin (Elberfeld), rothbrauner Disazofarbstoff, der sich in Wasser mit kirschrother, in Schwefelsäure mit blauer Farbe löst. Die wässerige Lösung wird durch Zusatz von Natronlauge nicht verändert, mit Salzsäure bildet sich ein violetter Niederschlag.

Rose B à l'eau, Syn. für Erythrosin.

Rose bengale siehe Bengalrosa.

Roseïn, Syn. für Fuchsin.

Rosolsäure, zuerst von RUNGE im Jahre 1834 durch Einwirkung von Kalk auf rohe Karbolsäure, später von KOLBE durch Erhitzen von Phenol mit Oxalsäure und Schwefelsäure dargestellt. CARO lehrte dann den Zusammenhang zwischen Rosolsäure und Rosanilin kennen. Rosolsäure, $\begin{matrix} HO . C_6 H_4 \\ HO . C_6 H_4 \end{matrix} > C \langle \begin{matrix} C_7 H_6 \\ \quad \end{matrix} \rangle O$ bildet grüne, in Wasser unlösliche, in Alkohol mit gelbrother, in Alkalien mit rother Farbe lösliche Krystalle. Die Pararosolsäure, $\begin{matrix} HO . C_6 H_4 \\ HO . C_6 H_4 \end{matrix} > C \langle \begin{matrix} C_6 H_4 \\ \quad \end{matrix} \rangle O$ verhält sich ganz ähnlich. Erstere kommt im unreinen Zustand im Handel als Korallin, letztere als Aurin vor. Beide Säuren können aus Rosanilin, resp. Pararosanilin durch Behandlung mit salpetriger Säure erhalten werden und ebenso in jene durch Behandlung mit Ammoniak übergeführt werden.

Rotation des Protoplasmas siehe Plasmaströmung.

Rotatorien siehe Räderthiere.

Rothholz siehe Fernambukholz.

Rothkohlfarbstoff siehe Pflanzenfarbstoffe.

Rothlaufbacillus, Bacillus rhusiopathiae suis (KITT). Der Bacillus des Schweinerothlaufs färbt sich leicht mit den wässerigen Lösungen der gebräuchlichen Anilinfarben. Er färbt sich auch nach der GRAM'schen Methode. Für die leichtere Auffindung der zarten Schweinerothlaufbacillen ist die GRAM'sche Färbung besonders zu empfehlen. Schnitte färbt man am besten nach der GRAM'schen Methode. Schöne Präparate erhält man nach Vorfärbung der Schnitte mit Pikrokarmin und nachheriger Behandlung nach der GRAM'schen Methode.

Litteratur: LÖFFLER (Arb. Kais. Gesundheitsamt, 1886, Bd. 1), KITT (Bakterienkunde und patholog. Mikroskopie, 1895). *Künnemann,* Breslau.

Rothstichblau siehe Anilinblau.

Rotzbacillus, Bacillus mallei. Der Rotzbacillus färbt sich zwar auch mit den wässerigen Lösungen der gebräuchlichen verschiedenen Anilinfarben, jedoch so wenig intensiv, dass ihre Anwendung nicht vortheilhaft ist. Auch die GRAM'sche Methode ist nicht zu verwenden, da sich der Rotzbacillus hiernach nicht färbt. Bessere Färbungen als die einfach wässerigen Lösungen geben alkalische Farblösungen. Häufig genügt die Färbung mit der LÖFFLER'schen Methylenblaulösung, die aus 30 Ccm. gesättigter alkoholischer Methylenblaulösung und 100 Ccm. wässeriger 0.01%iger Kalilauge besteht. Am besten färbt man aber mit Anilinwasser-Gentianaviolett, bezw. Fuchsin, dem die gleiche Menge Kalilauge 1 : 10.000 oder ½%ige Lösung von Liqu. Ammonii caustic. zugesetzt ist. Wird das Präparat dann 1 Sekunde in eine 1%ige Essigsäure getaucht, der so viel einer wässerigen Lösung von Tropaeolin OO zugesetzt wurde, dass sie eine rheinweingelbe Farbe angenommen hat, so erhält man recht klare Präparate, da das Zellprotoplasma dann ganz, die Kerne etwas entfärbt sind, während die Bacillen ihre Farbe beibehalten. Nach dieser von LÖFFLER angegebenen Methode verfährt man demnach folgendermassen:

1. Färben 5 Minuten lang mit Anilinwassergentianaviolett oder Anilinwasserfuchsin, dem in gleicher Menge Kalilaugelösung 1 : 10.000 oder ½%ige Lösung von Liqu. Ammonii caustic. zugesetzt ist.

2. Abspülen 1 Sekunde in 1%iger Essigsäurelösung, der Tropaeolin OO in wässeriger Lösung bis zur rheinweingelben Färbung beigemischt ist.

3. Abspülen schnell in destillirtem Wasser.

Da die Kalilauge mit Gentianaviolett und Fuchsin nach einiger Zeit Niederschläge bildet, so muss die Herstellung der Farbflüssigkeit unmittelbar vor dem Gebrauch erfolgen. Statt dieser Farblösungen kann auch die Löffler'sche Methylenblaulösung Verwendung finden. Dieselbe hat den Vorzug, dass sie sich unbeschränkt haltbar und gebrauchsfähig erhält.

Schnitte färbt man nach derselben Methode, jedoch muss die Anilinwassergentiana-, bezw. Fuchsinlösung länger, $1/4$—$1/2$ Stunde einwirken. Für die Differenzirung der Schnitte eignet sich besser als die Essigsäure-Tropaeolinlösung eine Lösung aus: 10 Ccm. Aqua destill. mit Zusatz von zwei Tropfen koncentrirter schwefliger Säure und einem Tropfen 5%iger Oxalsäure. Vortheilhaft ist es noch, wenn die Schnitte vor der Färbung einige Minuten in Kalilauge 1 : 10.000 gelegen haben. Die Zeitdauer der Behandlung der Schnitte in Farblösung und in dem Entfärbegemisch hängt von der Dicke der Schnitte ab und muss daher ausprobirt werden.

Kühne hat die von ihm angegebene Färbemethode auch für die Färbung der Rotzbacillen in Schnitten empfohlen. Die Schnitte werden $1/2$ bis 2 Stunden mit Karbolmethylenblau (1,5 Methylenblau, 10,0 Alkohol absolut., 100,0 5%iges Karbolwasser) gefärbt, dann abgespült in einer Lösung von kohlensaurem Lithion (6—8 Tropfen einer koncentrirten Lösung von Lithion carbonic. auf 10 Ccm. Wasser. Nachdem die Schnitte dann 3—5 Minuten in Wasser und darauf kurz in absoluten Alkohol eingetaucht waren, werden sie in Methylenblauanilinöl (1 Messerspitze voll Methylenblau wird in 10 Ccm. Anilinöl verrieben und hiervon zu reinem Anilinöl soviel zugesetzt, bis ein bestimmter Farbenton vorhanden ist) übertragen und darauf einige Minuten in reines Anilinöl, dann in Tereben, Xylol und Kanadabalsam.

Litteratur: Löffler (Arb. Kais. Gesundheitsamt, 1886, Bd. 1), H. Kühne (Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien im thierischen Gewebe).

Künnemann, Breslau.

Rouge français, eine Mischung von Orange II und Echtroth.

Rouge neutre, Syn. für Neutralroth.

Rubeosin, Abkömmling des Fluoresceïns, der nicht im Handel ist.

Rubidin, Syn. für Echtroth.

Rubin, Syn. für Fuchsin (Berlin).

Rubin S, Syn. für Säurefuchsin (Berlin).

Russ, fein vertheilter Kohlenstoff. Der käufliche Kienruss ist für mikrotechnische Zwecke gewöhnlich nicht fein genug, am besten stellt man ihn sich selbst durch Verbrennen von Terpentinöl oder Kampher her. In einiger Entfernung wird über die Flamme eine Metall- oder Glasplatte gehalten, an welcher sich der Russ absetzt.

Rutheniumroth, ammoniakalisches Rutheniumsesquichlorid, Ru_2Cl_6, löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol. Alkalien geben in der wässerigen Lösung einen Niederschlag, verdünnte Mineralsäuren entfärben sie. Die wässerigen Lösungen zersetzen sich am Licht unter Bildung von Rutheniumsesquioxyd. Das Rutheniumroth hat die Eigenschaften eines basischen Farbstoffs. (Sehr theuer: 0,1 Grm. 3 Mark.)

Von Joly dargestellt, wurde es von Mangin in die botanische Mikrotechnik eingeführt; er rühmt es in sehr dünner Lösung (0,01—0,02%) als

vorzügliches Färbungsmittel für pflanzlichen Schleim. Eisen hat es dann zur Färbung der achromatischen Spindel empfohlen. Er löst den Körper in einer Mischung von 80 Theilen Wasser, 10 Theilen absoluten Alkohols und 10 Theilen Glycerin. Färbung zunächst 5 Minuten in 1%igem Thionin in 10%igem Alkohol oder 12—24 Stunden in sehr verdünnter Thioninlösung, kurz in Wasser abspülen und differenziren mit wenigen Tropfen Rutheniumlösung unter dem Mikroskop, absoluter Alkohol, Bergamottöl, Xylol, Balsam. Chromosomen blau, Spindel roth.

Litteratur: Joly (Compt. rend., 1892, Bd. 115), Mangin (ebenda, 1893, Bd. 116), Eisen (Zeit. wiss. Mikr. 1897, Bd. 14).

Rutheniumtetroxyd, RuO_4, Ueberrutheniumsäure, eine goldgelbe krystallinische Masse, die schon bei 25,5° schmilzt und sich langsam mit gleicher Farbe in Wasser löst. Diese Lösung stösst Dämpfe aus, deren Wirkung Ranvier studirt hat. Sie wirken sehr stark reducirend und schwärzen unterschiedslos alle Gewebetheile auch bei kurzer Einwirkungsdauer; sie dringen nur sehr schwer in die Gewebe ein. Ranvier hat das Rutheniumtetroxyd mit Osmiumsäure kombinirt; die nach 12 Stunden Osmium Räucherung ungeschwärzten Becherzellen der Froschpharynxschleimhaut treten nach 3—4 Minuten langer Wirkung des Rutheniumdampfes intensiv geschwärzt sehr deutlich hervor.

Litteratur: Ranvier (Compt. rend., 1887, Bd. 78). *Poll,* Berlin.

S.

Saccharomyceten siehe Hefe.

Saccharose (Rohrzucker) siehe Zucker in pflanzlichen Geweben.

Säurebraun, Syn. für Echtbraun.

Säurefuchsin, Syn. Fuchsin S, Rubin S, Säurerubin, Acid. Magenta, Gemische der Natrium- und Ammoniumsalze der Rosanilin- und Pararosanilintrisulfosäure (Ludwigshafen). Durch Behandlung von Fuchsin mit rauchender Schwefelsäure entstehen die Rosanilinsulfosäuren, welche zunächst in die Kalk- und dann in die Natronsalze übergeführt werden. Die neutralen Salze der lebhaft roth gefärbten Säure sind farblos, die sauren dagegen ebenfalls roth gefärbt. Versetzt man eine Lösung der letzteren mit Natronlauge, so tritt fast völlige Entfärbung ein. Mit Salzsäure tritt keine Veränderung ein, in Schwefelsäure löst sich der Farbstoff mit gelber Farbe. Das Säurefuchsin kommt entweder in Form eines rothbraunen Pulvers oder metallisch glänzender Körner (Rubin S) in den Handel. Es ist in Wasser sehr leicht (ca. 20%), in Alkohol dagegen viel weniger leicht löslich.

In der Färberei wird das Säurefuchsin ausschliesslich im sauren Bade benützt. Man setzt demselben 20—30% schwefelsaures Natron und 2—4% Schwefelsäure zu und erhitzt während des Färbeprocesses bis zum Kochen. Für Baumwolle ist es nicht verwendbar, ebenso wegen seiner Empfindlichkeit gegen Alkalien nicht für Waaren, die gewalkt werden sollen.

In die histologische Technik ist das Säurefuchsin durch Ehrlich eingeführt worden und seit dieser Zeit einer der am meisten verwendeten sauren Farbstoffe geworden, besonders wegen seiner grossen Verwandtschaft zum Bindegewebe. Es ist ein vorzüglicher Protoplasmafarbstoff und zur Gegenfärbung nach blauen, grünen und schwarzen Kernfärbungen hervorragend geeignet. Man löst es zu diesem Zweck zu 0,05—0,1% in Wasser oder dünnem Alkohol. Es färbt sehr rasch und intensiv, jedoch lässt sich eine Ueberfärbung wegen der grossen Empfindlichkeit des Farbstoffes gegen Alkalien schon durch Leitungswasser korrigiren.

Ein gutes Differenzirungsmittel für Säurefuchsin ist auch die Pikrinsäure in wässeriger oder alkoholischer Lösung. Diese Eigenschaft benutzte Altmann bei seiner Granulafärbung. Man kann dann das Säurefuchsin direkt in wässeriger Pikrinsäure lösen und dieses Gemisch, wie das van Gieson thut, zum Nachfärben von Hämatoxylin- oder Gentianaviolettpräparaten verwenden. Er setzt zu 100 Ccm. einer koncentrirten wässerigen Pikrinsäure 5 Ccm. 1%igen Säurefuchsins; Hansen nimmt in denselben Proportionen 2%iges Säurefuchsin und setzt zu 9 Ccm. der Mischung 1 Tropfen 2%iger

Essigsäure. Apáthy nimmt an Stelle der Pikrinsäure ihr Ammoniumsalz und löst darin 1% Säurefuchsin. Mit allen diesen Mischungen färbt sich das Bindegewebe leuchtend roth, Muskulatur und Protoplasma dagegen gelb.

Das Säurefuchsin ist ferner in zahlreichen Farbgemischen als Plasmafarbstoff enthalten, vor allem in dem Ehrlich'schen Triacidgemisch und seiner Abänderung durch Heidenhain-Biondi. Auch hier färbt es vor allem das Bindegewebe, dann aber auch die achromatischen Spindelfäden, das Centrosoma, die Nukleolen und manche Granulationen des Zellkörpers. Galeotti dagegen benutzt in seiner Dreifachfärbung das Säurefuchsin als Chromatinfarbstoff (Näheres siehe im Artikel Methylgrün).

Eine ausgedehnte Anwendung hat es des weiteren auch in der Färbungstechnik des Nervensystems seit dem Vorgang von Weigert und Kupffer gefunden. Weigert benutzte es früher zur Markscheidenfärbung. Er färbt die Schnitte in koncentrirter Säurefuchsinlösung und differenzirt in alkoholischer Kalilauge (1 Grm. Kalium caust. auf 100 Ccm. absol. Alkohol). Die Methode wird jetzt wohl kaum mehr angewandt. Kupffer hat uns gelehrt, mit Säurefuchsin die Fibrillen des Achsencylinders in ausgezeichneter Weise zu färben (Näheres siehe Artikel Nervenfasern und -zellen, Fibrillen derselben). Aber auch zur Darstellung der Gliafasern hat der Farbstoff Verwendung gefunden. Kultschitzky fixirt die Centralorgane 2—3 Monate in seiner Fixationsflüssigkeit (vergl. pag. 146) und färbt die Schnitte von dem nicht eingebetteten Material in einer mit gleichen Theilen 2%iger Essigsäure verdünnten koncentrirten Pikrinsäure, der auf 200 Ccm. Mischung 0,25 Grm. Rubin zugesetzt sind. Auswaschen in Alkohol. Geringe Abänderungen dieser Methode rühren von Popow und Burchardt her. Der erstere verwendet 1%ige Rubinlösung mit etwas Jodtinktur oder 3%ige alkolische Pikrinsäure, die mit Rubin gesättigt ist. Burchardt färbt die Kerne zuerst mit Methylviolett und überträgt dann in eine Mischung von 9 Theilen $^1/_3$%iger wässeriger Pikrinsäure und 1 Theil koncentrirter wässeriger Rubinlösung.

Litteratur: Ehrlich (Zeit. klin. Med., 1880, Bd. 1), van Gieson (Trans. Amer. Micr. Soc., 1898, Bd. 19), Hansen (Anat. Anz., 1898, Bd. 15), Weigert (Centr. med. Wiss., 1882, Bd. 20), Kupffer (Sitz. Bayer. Ak. Wiss., 1884, Bd. 13), Kultschitzky (Anat. Anz., 1892, Bd. 8), Popow (Zeit. wiss. Mikr., 1896, Bd. 13), Burchardt (Cellule, 1897, Bd. 20).

Säuregelb, Syn. für Echtgelb (Berlin).

Säurerubin, Syn. für Säurefuchsin.

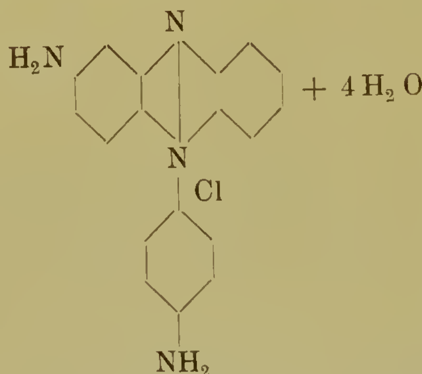
Säureviolett. Unter diesem Namen kommen die Natronsalze der Sulfosäuren verschiedener, hauptsächlich benzylirter Abkömmlinge des Methylvioletts und ähnlicher Farbkörper in den Handel. So ist z. B. das Säureviolett 2 B (Ludwigshafen) das Natronsalz der Sulfosäure des Methylvioletts, das Säureviolett 4 BN (Ludwigshafen) das Natronsalz der Sulfosäure des Pentamethylbenzylpararosanilins, das Säureviolett 4 RS das Natronsalz der Dimethylrosanilintrisulfosäure. Es sind das alles blaue oder violette Pulver, die in Wasser und Alkohol mit der gleichen, in Schwefelsäure mit gelber oder brauner Farbe löslich sind. Mit Natronlauge tritt meist Entfärbung der wässerigen Lösung ein.

In ihrem färberischen Verhalten sind sie dem ihnen nahe verwandten Säurefuchsin sehr ähnlich.

Safranin. Unter der Bezeichnung Safranin fasst man eine Gruppe zu den Azinen gehöriger Farbstoffe mit mindestens drei Kohlenwasserstoffkernen zusammen, die sich dadurch auszeichnen, dass sie 4 Atome Stickstoff enthalten. Sie entstehen beim Behandeln von Amidoderivaten des Toluols mit Oxydationsmitteln, besitzen stark basischen Charakter und

bilden drei Reihen von Salzen, von denen die Monacide zum Unterschied von den übrigen Azinen wie die Base roth, die Diacide blau und die Triacide grün gefärbt sind. Durch Reduktion gehen sie unter Aufnahme von zwei Wasserstoffatomen in Leukokörper über. Die Bildung von Safranin wurde zuerst von PERKIN im Jahre 1868 bei der Darstellung des Mauveïns beobachtet. Safranine bilden sich durch Erhitzen von Indaminen mit primären Monaminen, durch Einwirkung von Aminen auf Amidoazokörper und durch Oxydation von Paradiamin mit Monamin.

Das einfachste Safranin ist das Phenosafranin, das durch Oxydation von 1 Molekül Paraphenylendiamin und 2 Molekülen Anilin entsteht. Ihm kommt als salzsaures Salz nach WITT folgende Formel zu:



Das Safranin des Handels ist das Tolusafraninchlorid. Es wird erhalten durch Oxydation von gleichen Molekülen Paratoluylendiamin und Ortholuidin zu dem Indamin und Kondensation desselben mit Anilin oder Toluidin (GEIGY), Synonyme: Safranin T (Ludwigshafen), Safranin extra G (Berlin), Safranin konc. (Höchst), Safranin FF extra Nr. 0 (Elberfeld). Es ist ein braunrothes, in Alkohol leicht, in Wasser schwerer (0,6%) mit rother Farbe und gelbrother Fluorescenz lösliches Pulver. In Schwefelsäure löst es sich mit grüner Farbe, die beim Verdünnen durch Blau in Roth übergeht. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure blauviolett, mit Ammoniak bleibt sie unverändert, mit Natronlauge entsteht ein brauner Niederschlag.

In der Färberei viel benutzt, doch nicht lichtecht. Wolle wird in neutralem oder saurem Bad gefärbt, Baumwolle zuerst mit Tannin und Brechweinstein gebeizt und dann im warmen neutralen Bad gefärbt.

Das Safranin ist wohl von E. HERMANN in die Mikrotechnik eingeführt und vor allem durch die Empfehlung von FLEMMING und PFITZNER bekannt geworden. Es ist ein ganz vorzüglicher Kernfarbstoff, der aber in seiner Handhabung wohl wegen der verschiedenartigen in den Handel gebrachten Produkte nicht selten Misserfolge giebt. Meistens wird empfohlen das Safranin in konc. alkoholischer Lösung vorräthig zu halten und vor dem Gebrauch mit Wasser zu verdünnen. FLEMMING löst in absolutem Alkohol und verdünnt mit der Hälfte Wasser, BLANC löst 5 Grm. Safranin in 15 Ccm. absoluten Alkohols und verdünnt mit der Hälfte Wasser, NIKIFOROW verwendet konc. wässerige Lösung, KOSSINSKY 0,5%ige schwach alkoholische Lösung. Am meisten im Gebrauch sind jedoch die mit Anilin versetzten Lösungen; so löst BABES Safranin im Ueberschuss in 2%igem Anilinwasser, erwärmt auf 60° und filtrirt noch warm, ZWARDEMAKER färbt in einer konc. alkoholischen Lösung, die er mit gleichen Theilen Anilinwasser verdünnt, ebenso LEE. Safranin färbt sehr rasch, doch lässt man gewöhnlich nach dem Vorgang von FLEMMING die Schnitte über Nacht in der Lösung. Zum Differenziren der überfärbten Schnitte wird gewöhnlich Alkohol von 90 oder mehr Procent benutzt. Häufig aber dauert die Differenzirung dann ausserordentlich lange oder geht nicht vorwärts, so dass

man sich genöthigt sieht, den Alkohol mit Salzsäure anzusäuern. Geschieht das letztere nicht ganz vorsichtig, so entweicht die Farbe im Moment aus dem Schnitt, oder die Färbung wird ungleich. Deshalb rathen wir, dem Alkohol tropfenweise einen etwa mit 1% Salzsäure angesäuerten Alkohol zuzusetzen. Flemming verwendet absoluten Alkohol mit 0,5% Salzsäure, Podwyssozki differenzirt in alkoholischer Pikrinsäure, Adamkiewicz in wässeriger, sehr stark verdünnter Salpetersäure, Mc. Clure in ganz schwacher Essigsäure. Man kann auch Safraninpräparate oft mit sehr gutem Erfolg nach der Gram'schen Methode mit Jodjodkalium differenziren (Babes) oder durch einen zweiten sauren Farbstoff. Dazu eignet sich nach Benda am besten das Lichtgrün oder Säureviolett. Er färbt zunächst 24 Stunden in Safranin (nach Babes) und differenzirt dann vorsichtig $^1/_4$—$^1/_2$ Minute in einer 1%igen Lösung von Lichtgrün in 96%igem Alkohol. Ganz ähnlich verfährt Mc. Clure. Maximow hat diese Methode etwas modificirt. Er behandelt Hermannschnitte zuerst mit einer hellrosafarbigen Lösung von Kaliumpermanganat, bis sie ockerfarben sind, spült in Wasser ab und entfärbt in dem Pal'schen Säuregemisch. Dann färbt er $^1/_2$ Stunde in konc. wässeriger Lösung von Safranin und behandelt $1^1/_2$—2 Minuten mit einer 0,25%igen alkoholischen Lösung von Lichtgrün oder Säureviolett bis keine dunklen Wolken mehr abgehen, absol. Alkohol, Xylol, Balsam. Wilcox verwendet statt des Lichtgrüns Viktoriagrün, Ciaglinsky wässerige Lösung von Anilinblau, Nikiforow färbt Müllerschnitte des Centralnervensystems (die Präparate dürfen nicht ausgewaschen und eingebettet sein) 24 Stunden in Safranin, wäscht in Alkohol aus, bis die graue Substanz deutlich wird und überträgt sie in 0,2%iges Goldchlorid oder in 0,1%iges Platinchlorid, bis die graue Substanz einen Stich ins Violette bekommt, dann Alkohol, Nelkenöl, Xylol und Balsam.

Ueber die Färbung der elastischen Fasern und des Schleims durch Safranin vergl. Artikel Elastin und Schleimfärbung.

Litteratur: Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 19, 1881), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), Pfitzner (Morph. Jahrb., Bd. 6, 1880), Blanc (Zool. Anz., Bd. 6, 1883), Nikiforow (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), Kossinsky (Wratsch, 1888), Babes (Virch. Arch., Bd. 105, 1888), Zwaardemaker (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), Lee (Lee und Mayer, Grundzüge), Podwyssozki (Beitr. path. Anat., Bd. 1, 1886), Adamkiewicz (Sitz. kais. Ak. Wiss., Bd. 89, 1884), Mc. Clure (Zool. Jahrb., Bd. 11, 1897), Benda (Arch. Phys., 1891), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1892), Maximow (Arch. mikr. Anat., Bd. 51, 1897), Wilcox (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard, Bd. 27, 1895), Ciaglinski (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891).

Safrosin, Syn. für Eosinscharlach.

Salicin siehe Glykoside.

Salicylaldehyd, Acidum salicylosum, salicylige Säure, Ortho-Oxybenzaldehyd, $C_6H_4\begin{cases}OH\\COH\end{cases}$, findet sich in den Blüten und Blättern vieler Pflanzen (Spiraea ulmaria, Paeonia offic. und andere) und kann durch Oxydation von Salicin erhalten werden. Es stellt eine farblose, ölige Flüssigkeit von 1,725 spec. Gewicht dar, die bei 196° siedet und bei —20° erstarrt und in Wasser leicht mit neutraler Reaktion löslich ist. Eisenchlorid färbt die Lösung violett.

Krasser fixirt Chromatophoren in einer 1%igen alkoholischen Lösung 24 Stunden lang.

Litteratur: Krasser (Bot. Centr., Bd. 52, 1892).

Salpetersäure, Acidum nitricum, HNO_3. Salze dieser Säure — Nitrate genannt — finden sich in der Natur, so der Natron- und Kalisalpeter, die durch Zersetzung aus stickstoffhaltiger organischer Materie hervorgegangen sind. Synthetisch entsteht Salpetersäure bei längerem Durchschlagen elektri-

scher Induktionsfunken durch wasserdampfhaltige Luft. $H_2O + 2N + 5O = 2HNO_3$. Demgemäss findet sich Ammoniumnitrat bisweilen (nach elektrischen Entladungen) in der Atmosphäre.

Technisch wird Salpetersäure durch Destillation von Natriumnitrat und Schwefelsäure dargestellt, indem man die Reagentien im Mengenverhältniss der folgenden Gleichung aufeinander wirken lässt: $NaNO_3 + H_2SO_4 = NaHSO_4 + HNO_3$.

Koncentrirte reine Salpetersäure ist eine farblose Flüssigkeit, die an der Luft stark raucht; sie hat das spec. Gewicht 1,54 bei 0°. Bei gewöhnlicher Temperatur färbt sich reine Salpetersäure, namentlich im Sonnenlicht, bald gelb. Diese Färbung beruht auf einem partiellen Zerfall der Säure in Wasser, Sauerstoff und Stickoxyd: $2HNO_3 = H_2O + O + NO_2$. Diese Zersetzung wird bei einer Erhitzung der Salpetersäuredämpfe auf 260° vollständig. Bei —40° erstarrt die koncentrirte Salpetersäure zu einer blättrig-krystallinischen Masse.

Die gewöhnliche koncentrirte Salpetersäure des Handels enthält 68% HNO_3; sie siedet unzersetzt bei 121° und hat bei 15° das spec. Gewicht 1,414. Von einem Gehalt an Stickoxyd lässt sie sich durch Einleiten eines Luftstromes befreien, wobei sie farblos wird.

Salpetersäure ist eine der stärksten Säuren, die wir haben; sie oxydirt die meisten elementaren Metalloïde, wie Schwefel, Phosphor und Kohlenstoff, zu den höchsten Sauerstoffstufen, den zugehörigen Säuren, resp. deren Anhydriden. Ebenso verwandelt sie fast alle Metalle in Nitrate oder Oxyde, mit Ausnahme der Edelmetalle Platin und Gold. Auch letztere vermag sie im Vereine mit starker Salzsäure zu lösen. Die Wirkung dieser Mischung, des sogenannten Königswassers, beruht auf einem Gehalt an freiem Chlor und Stickstoffoxychlorid (Nitrosylchlorid): $HNO_3 + 3HCl = 2H_2O + NOCl + 2Cl$.

Die Salpetersäure ist allgemein ein starkes Oxydationsmittel, das auch organische Substanzen kräftig angreift, z. B. Farbstoffe bleicht. Hierbei wird die Salpetersäure selbst zu niederen Oxydationsstufen, den Stickoxyden NO und NO_2, reducirt.

Gewisse Metalle vermögen verdünnte Salpetersäure noch weiter zu reduciren, so Zinn zu Hydroxylamin: $HNO_3 + 6H = 5H_2O + NH_2 . OH$. Zink reducirt Salpetersäure zu Ammoniak: $HNO_3 + 8H = 3H_2O + NH_3$, Aluminium hat in alkalischer Lösung den gleichen Effekt.

Die salpetersauren Salze sind meist normal, d. h. in der Formel xNO_3 zusammengesetzt und in Wasser leicht löslich; nur einige basische Nitrate, z. B. das des Wismuths (Bismuthum subnitricum), sind wasserunlöslich.

Rauchende rothe Salpetersäure ist eine konc. Salpetersäure, die reichliche Mengen Stickstoffdioxyds (NO_2) gelöst enthält, das an der Luft zum Theil unter starker Rauchentwicklung entweicht (Acidum nitricum fumans); sie hat meist ein spec. Gewicht von 1.5—1,54. Sie wird durch Destillation von gewöhnlicher Salpetersäure mit viel koncentrirter Schwefelsäure dargestellt, neuerdings auch (nach Vanino) durch Lösen von Paraformaldehyd in koncentrirter Salpetersäure: $4HNO_3 + (CH_2O) = 3H_2O + CO_2 + 4NO_2$.

Rauchende rothe Salpetersäure wirkt noch stärker oxydirend als die gewöhnliche.

Erkennung der Salpetersäure: 1. Eine Lösung von Diphenylamin in koncentrirter Schwefelsäure färbt sich auf Zusatz von Salpetersäure intensiv blau. 2. Die Lösung eines salpetersauren Salzes, das mit einigen Tropfen frischbereiteter Ferrosulfatlösung versetzt ist, giebt bei vorsichtigem Ueberschichten mit koncentrirter Schwefelsäure an der Berührungsfläche einen braunen, bei grosser Verdünnung amethystfarbenen Ring. (Diese

Reaktion kommt auch den Salzen der salpetrigen Säure (HNO_2) und den meisten Stickoxyden zu.) *Neuberg*, Berlin.

Nach TELLYESNICZKY benutzten schon KEUFFEL 1810 und RUSCONI im Jahre 1836 die Salpetersäure. In die moderne Mikrotechnik führte sie ALTMANN ein, nachdem sie bereits längere Zeit im HIS'schen Laboratorium im Gebrauch gewesen war.

Nirgends ist die bei mikroskopisch-technischen Angaben übliche Ungenauigkeit grösser als bei den Mittheilungen über den Stärkegrad der zur Herstellung der jeweils gebrauchten Verdünnungen benutzten Salpetersäure. Nur ganz vereinzelt trifft man auf die Angabe des specifischen Gewichtes der Stammlösung. FOL benutzt die koncentrirte Salpetersäure der chemischen Laboratorien mit 1,5 spec. Gewicht; BÖHM und OPPEL die 70⁰/₀ige Säure vom spec. Gewichte 1,40. Diese kommt dem Gehalt der üblichen koncentrirten Salpetersäure des Handels ziemlich nahe und dürfte, wo genaue Bezeichnungen fehlen, meist benutzt worden sein.

Die Salpetersäurefixation ist von sehr vielen Seiten für die allerverschiedensten Organe empfohlen worden. Bedeutung hat sie für die embryologische Technik, zumal die Präparation von Eiern und Keimscheiben, und ähnliche besonders zarte Objekte, wie die Retina, erlangt; für diese ist sie wohl zuerst von MICHAELIS 1842 benutzt worden. Man nimmt im allgemeinen eine 2—5⁰/₀ige wässerige Lösung bei gewöhnlicher Temperatur, und zwar nicht länger als 6—8 Stunden. Diese Zeitdauer genügt für mittelgrosse Stücke vollkommen, da die Säure sehr leicht die Gewebe durchdringt. Die Angaben über den für specielle Zwecke geeigneten Stärkegrad schwanken in weiten Grenzen. Nach ALTMANN erhält man mit 3—3,5⁰/₀iger Salpetersäure vom spec. Gewicht 1,02 die überhaupt zuverlässigsten Bilder unter allen Fixationsmitteln vom Bau protoplasmatischer Objekte. Auf Embryonen lässt er sie ¹/₄—4 Stunden einwirken. Er warnt vor den stärkeren Lösungen. LEE findet dagegen die 3—3,5⁰/₀ige Säure zu schwach, auch MAYER fixirt z. B. Dekapodeneier mit 5⁰/₀iger Lösung. TELLYESNICZKY kommt genau zu dem entgegengesetzten Resultat; er findet die 3⁰/₀ige Säure zu stark für histologische Zwecke.

Die ALTMANN'sche 3,5⁰/₀ige Salpetersäure empfehlen BIRNBACHER für die Fischretina: Fixationsdauer 6 Stunden, dann 6 Stunden lang auswaschen, Entwässerung; DIMMER für die menschliche Retina 5—6 Stunden lang: die faltenlos fixirte Netzhaut faltet sich zuweilen bei der Alkoholnachbehandlung; MERK für meroblastische, grosse holoblastische Eier und Amphibien- und Fischembryonen; Fixationsdauer 3—4 Stunden, Nachbehandlung mit starkem Alkohol.

3⁰/₀ige Salpetersäure erwähnt VAN BENEDEN zur Fixation der zerzupften Ascariseischläuche mit nachfolgendem Auswaschen und Alkoholbehandlung; diese Methode giebt aber nur bis zur Kopulation, also bis zu dem Zeitpunkte gute Resultate, wo das wirkliche Fixationshinderniss, die dicke Eimembran, noch nicht vorhanden ist. KOSTANECKI und SIEDLECKI benutzen sie ebenfalls für das Ascarisei, zum Studium des Verhaltens des Centrosoms zum Protoplasma. OLT fixirt das Ei und junge Keime des Bitterlings drei Minuten lang mit dieser Lösung, bringt dann die Objekte in 5⁰/₀ige Alaunlösung, dann in Wasser; PIERSOL fixirt junge Kaninchenembryonen, MITROPHANOW Hühnerkeimscheiben, R. KRAUSE Leber mit der gleichen Lösung.

Schwächere Koncentrationen benutzt CHIEVITZ, der den Bulbus aus dem Kopf des Frosches unter einer Lösung mit 2,5⁰/₀ Anhydridgehalt präparirt; die dazu nothwendige Zeit reicht zur Fixation der Retina aus; er wäscht, abweichend von vielen anderen Autoren, in Wasser aus und behandelt mit 80⁰/₀igem Alkohol weiter.

Kostanecki und Wierzejski fixiren für feinste Zellenstudien mit gutem Resultat in 1,5—2%iger Salpetersäure. Cloetta wendet für den Vogeldarm eine 3%ige Säure an, die aus einer Stammlösung von 1,18% spec. Gewicht mit 32% Säurehydrat nach Stöhr bereitet wurde; Fixationsdauer 5 Stunden, Nachbehandlung mit Alkohol.

Stärkere Lösungen sind andererseits mindestens ebenso häufig empfohlen worden. Eine 3—4%ige ist von Engelmann für die Retina, eine 3—5%ige von Loewenthal für die Oxyurisspermiogenese, eine 4%ige von Stoss für Schafsembryonen zum Studium der Entwicklung der Verdauungsorgane und von Keibel für Schweineembryonen angegeben worden. Drasch macht sich bei der Anwendung einer 5%igen Salpetersäure beim Studium der Giftdrüsen in der Salamanderhaut zugleich mit der fixirenden die leicht macerirende Wirkung zunutze, so dass er brauchbar fixirte, isolirte Drüsen erhält. 10%ige Salpetersäure dient Rabl-Rückhardt zur Fixation von Knochenfischkeimen 1/4 Stunde lang; der von den Hüllen befreite Embryo gelangt dann noch auf eine Stunde in die gleiche Lösung hinein; Nachbehandlung erfolgt mit 1—2%iger Alaunlösung. Die gleiche Koncentration wird vielfach von His und seinen Schülern angewandt; Hoffmann fixirt Hühnerkeimscheiben 10 Minuten lang darin, dann lässt sich der Keim sehr leicht vom Dotter ablösen, die Dotterhaut abziehen; Nachbehandlung mit 2%iger Alaunlösung, dann mit Alkohol; Zumstein behandelt mit 10%iger Salpetersäure fixirte Maulwurfsembryonen mit Pikrinalkohol nach. Minot giebt als Schnellfixationsmethode für kleine Stücke an: Einlegen in koncentrirte Salpetersäure 1 Th., Wasser 9 Th., d. h. also eine 10%ige Lösung, für 3—5 Minuten, fliessendes Wasser auf 15—20 Minuten, 30%iger Alkohol 10 Minuten, 50%iger Alkohol 1 Stunde, 70%iger Alkohol mehrere Tage lang unter Erneuerung, bis er sich nicht mehr braun färbt. Auch Fol räth für die Gewebe zur Anwendung 10%iger Salpetersäure. 40—50%iger Salpetersäure hat sich Flemming nach Tellyesniczky bedient für die Eier einzelner Wirbellosen, und der koncentrirten Säure gar Boehmig zur Fixation der Muskeln und des Parenchyms von Rhabdocoelen.

Bei der Nachbehandlung der Salpetersäurepräparate ist nach Altmann Wasser zu vermeiden, da die Objekte rasch zerfallen, daher dieses Verfahren eine Isolationsmethode darstellt. Man bringt die Stücke für Fixationszwecke direkt in 70%igen Alkohol, entwässert mit steigendem Alkohol und bettet dann in der üblichen Weise ein. Die Nachbehandlung mit Alaunlösungen ist schon bei den Fixationsvorschriften Rabl-Rückhardt's, Hoffmann's, Olt's erwähnt worden. Goronowitsch steigt mit der Koncentration der Alaunlösung bis zu 5% an; er bringt, allerdings für Totalansichten, Keimscheiben 3 Minuten in 5%ige Säure, 1 Stunde in 5%ige Alaunlösung und dann in 10%iges Glycerin mit etwas Sublimat. Eine starke Alaunlösung benutzt auch Gage zur Aufbewahrung von Muskelfasern, die mit 20%iger Salpetersäure isolirt wurden.

Von den Nachbehandlungsverfahren mit anderen Fixationsmitteln nach Salpetersäurefixirung ist der Zusatz von Pikrinsäure zum Alkohol schon erwähnt (Zumstein). Besonders häufig sind hierzu die Chromsäure und die chromsauren Salze herangezogen worden. Nach dem Vorgang von Benda, der erst mit 10%iger Salpetersäure fixirt und die Stücke, z. B. die Retina, auf 2—3 Tage unmittelbar mit Lösungen von Kaliumbichromat in steigender Koncentration oder mit Müller'scher Flüssigkeit nachbehandelt (s. Mitochondria), haben Henneberg und Kastschenko besonders für Oberflächenbilder von Embryonen die zweite, Auburtin für die Kolbenhaare und Unger für die Milchdrüse die erste Methode angewandt, und zwar dieser Nachbehandlung mit 5%igem Kaliumbichromat. Angelucci fixirt in 3%iger Säure 1/2—3 Stunden lang und behandelt 10 Tage mit Müller'scher Flüssigkeit nach. Kazzander

erhält die besten Ossifikationspräparate nach Fixation in Salpetersäure und Nachbehandlung mit 1%iger Chromsäure. H. Virchow findet die Form der Sehzellen in der Retina von Hatteria nach Fixation in 3%iger Salpetersäure und darauf folgender Behandlung mit Müller'scher Flüssigkeit weitaus besser erhalten als an osmirtem Material. — Ueber die Bedeutung der Chromsalznachbehandlung siehe Chromsaure Salze pag. 145.

Auch mit Osmiumsäure ist Salpetersäurematerial nachbehandelt worden: so von Reid die Aalhaut je 24 Stunden mit 10%iger Salpetersäure und 1%iger Osmiumsäure; und von Unger die Milchdrüse mit 10%iger Salpetersäure und 0,5—1%iger Osmiumsäure.

Nach Tellyesniczky zerstören die 5%igen und die noch stärkeren Lösungen in den oberflächlichen Schichten die Kerne, und zwar je stärker sie sind, desto intensiver und ausgedehnter, im Innern der Stücke dagegen ist die Kernfixation eine recht brauchbare. Bei den schwächeren Lösungen fehlt die oberflächliche Kernzerstörung. Er empfiehlt als besten Stärkegrad die 2—2,5%ige Lösung. Das Protoplasma der Zelle ist aber auch dann nicht tadellos in seiner Gesammtheit erhalten. Auch v. Wasielewski, der eine 3%ige Lösung der 68%igen käuflichen Säure, also eine etwa 2%ige, untersuchte, findet bei brauchbarer Kernfixation der Pflanzenzelle das Cytoplasma »dünn«. Einzelne Plasmaderivate und einige Sekrete, wie das Kolloid der Thyreoidea, verändert die Salpetersäure und zerstört sie schliesslich (Bolau). Nach Fischer ist sie ein launisches Fällungsmittel, deren Fällungen oft im Ueberschuss wieder sich auflösen. »Man wird daher nach Salpetersäurefixirungen recht schwankende Bilder zu erwarten haben.« Nach Böhm und Oppel löst sie bei längerer Wirkung und auch bei stärkeren Koncentrationen in kurzer Zeit das Chromatin auf. Daher ist vor Ausdehnung der Salpetersäurefixirung etwa über die Dauer von sechs Stunden hinaus bei mittelgrossen Stücken zu warnen. Auf diese Bedeutung der Säure als Lösungsmittel hat Bethe bei der Darstellung seines Molybdänsäureverfahrens (s. Nervenfasern und -zellen, Fibrillen derselben) hingewiesen; man müsse sich ihrer bedienen, um Strukturen, die andere unkenntlich machen oder verdecken, zu beseitigen; in diesem Sinne als differentielles Fixationsmittel nach v. Apáthy verwendet er sie dann auch zur Fortschaffung der basophilen Nervenzellensubstanz.

Die Salpetersäure zeichnet sich durch ihre vielseitigen, oft sehr schätzenswerthen Nebenwirkungen aus; sie schafft gleichzeitig mit der Fixation störende Pigmente, Kalk aus dem Gewebe fort, erweicht chitinöse Theile. Da die Stücke in der verdünnten Lösung weich bleiben, so sind Präparationen und Isolationen am fixirten Objekt leicht ausführbar.

Litteratur: Tellyesniczky (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), Michaelis (Nova acta nat. cur. Acad. Leop.-Carol. 1842, Bd. 19), Altmann (Arch. Anat., Jhg. 1881), Fol (Lehrbuch, 1896, pag. 98), Böhm und Oppel (Taschenbuch, 1896, pag. 109), Lee (Lee und Mayer, Grundzüge, 1901, pag. 37), Mayer (ibidem), Birnbacher (Graefe's Arch., Bd. 40, 1894), Dimmer (Beitr. z. Anat. u. Phys. d. Macul. lutea des Menschen, 1894, Leipzig u. Wien), Merk (Denkschrift d. Akad. Wien, Bd. 53, 1887), van Beneden (Arch. Biol., Bd. 4, 1883), R. Krause (Arch. mikr. Anat., Bd. 42, 1893), Kostanecki und Siedlecki (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1896), Olt (Zeit. wiss. Zool., Bd. 55, 1893), Piersol (Zeit. wiss. Zool., Bd. 47, 1888), Mitrophanow (Anat. Hefte, Bd. 12, 1899), Chievitz (Arch. Anat., Suppl., 1889), Kostanecki und Wieczejski (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), Cloetta (Arch. mikr. Anat., Bd. 41, 1893), Engelmann (Verh. Koninkl. Akad. van Wetensch. te Amsterdam 1884, Pflüger's Arch., Bd. 35, 1885, s. a. van Genderen-Stort, Arch. f. Ophth., Bd. 30, 1887), Loewenthal (Int. Mts. Anat. Phys., Bd. 6, 1889), Stoss (D. Zeit. f. Thiermed. u. vergl. Path., Bd. 19, 1892), Keibel (Morph. Arb. Bd. 2, 1893), Drasch (Arch. Anat., 1894), Rabl-Rückhardt (Arch. Anat., 1882), His (Arch. Anat., 1887), Hoffmann (Arch. mikr. Anat., Bd. 41, 1894), Zumstein (Anat. Hefte, Bd. 10, 1898), Minot (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), Fol (Lehrbuch, 1896, pag. 98), Boehmig (Zeit. wiss. Zool., Bd. 43, 1886), Goronowitsch (Morph. Jahrb., Bd. 10, 1884), Gage (Proc. Amer. Soc. Micr., Bd. 11, 1889), Verh. d. Ges. Nat. u. Aerzte, 71. Vers., 2 Th., 1900), Henneberg (Anat. Hefte, H. 41, 1899), Kastschenko (Arch. mikr. Anat., Bd. 30, 1887), Unger (Anat. Hefte,

Bd. 10, 1898), Auburtin (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), Angelucci (Unters. Naturl. Mensch., Bd. 14, 1890), Kazzander (Anat. Anz., Bd. 18, 1900), H. Virchow (Sitzber. Ges. naturf. Freunde, Jg. 1901, Verh. d. physiol. Ges.. Berlin, Jg. 1900 (1901), Reid (Phil. Trans., Bd. 85, 1894), Unger (Anat. Hefte, Bd. 10, 1898), v. Wasielewksi (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), Bolau (Inaug.-Diss., Jena 1899), Fischer (Protoplasma, 1899, pag. 9), Bethe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), Apáthy (Mikrotechnik, I, 1896). *Poll*, Berlin.

Salpetersäuregemische. Entsprechend dem Charakter der Salpetersäure als starker Mineralsäure neigen ihre Gemische in hohem Grade zu erheblichen chemischen Umsetzungen, so dass wir über die Natur des eigentlich fixirend wirkenden Agens oft im Unklaren bleiben. Besonders energische Umsetzungen spielen sich ab, wenn die übrigen Komponenten des Gemisches auch sonst schon bei der Berührung mit organischen Substanzen leicht veränderliche Verbindungen sind, wie z. B. die Chromsäure. Lee und Mayer's Bezeichnung derartiger Fixationsgemische als »irrationell« gründet sich auf derartige Bedenken.

Chromsalpetersäure ist indessen sowohl in wässeriger als alkoholischer Lösung ein geschätztes und sehr oft gebrauchtes Fixationsmittel; zumal da sie mit der fixirenden zugleich eine entkalkende, chitinerweichende, pigmentzerstörende Wirkung verbindet. Burkhardt benutzt ein solches Gemisch für Eidechsen- und Amphibienköpfe; Graf fixirt die Exkretionsorgane von Nephelis vulgaris in $^1/_{100}$%iger Chromsalpetersäure (ohne nähere Angabe) und behandelt mit $^1/_2$%iger nach. Zander fixirt in dem Entkalkungsgemisch von Seiler, das aus 70 Theilen 1%iger Chromsäure, 3 Theilen Salpetersäure und 200 Theilen Wasser besteht. Hesse benutzt dieses Gemisch für Molluskenaugen, Cephalopodenretina.

Alkoholische Chromsalpetersäure ist als Perényi'sches Gemisch eine wohlbekannte Flüssigkeit geworden: es besteht aus 4 Theilen 10%iger Salpetersäure, 3 Theilen Alkohol (absolutus), 3 Theilen $^1/_2$%iger Chromsäure; nach Tellyesniczky aus 30 Theilen Alkohol, 4 Theilen Salpetersäure, 0,1 Theil Chromsäure, 100 Theilen Wasser; Lee und Mayer nehmen 90%igen Alkohol; absoluter erweist sich als besser. Mittelgrosse Stücke bleiben darin einige, 3—4 Stunden, und kommen dann sogleich in Alkohol. Das Gemisch verändert sich bald unter Violett- bis Grünfärbung. Nach Mayer besteht es dann im wesentlichen aus einem Alkohol von höchstens 30% mit etwa 4% Salpetersäure. Nach ihm kommt man bequemer zu dem gleichen Ziel mit dem von ihm angegebenen sauren Alkohol; auch Michel ersetzt das Gemisch für Anneliden durch Alkohol mit reichlich 3%iger Salpetersäure. Mayer weist auf Misserfolge bei der Fixation von Blattideneiern hin (Cholodkovsky), die auch Wheeler und Heymons ähnlich beurtheilen wie Mayer. Die Zahl der ungünstigen Urtheile aus der Litteratur lässt sich leicht vermehren; indessen hat sich eine grosse Reihe von Beobachtern des Mittels für die allerverschiedensten Zwecke bedient, zum Theil mit dem besten Erfolge, so dass man häufig genug die Angabe trifft, das Perényi-Gemisch sei das einzig brauchbare Fixationsmittel gewesen; allerdings werden auch Fehler erwähnt, z. B. die geringe Quellung, indessen zeigt die folgende noch sehr lückenhafte Reihe, dass sich das Gemisch einen weiten Kreis erobert hat. Spemann benutzt es für Froschlarven, Butschinsky für Eier von Gebia littoralis, und zwar kochend heiss, Kostanecki für Eier von Myzostoma glabrum, Klinkowström für das Studium der Eireifung und Befruchtungserscheinungen von Prostheceraeus vittatus, Unger für Nematodeneier, besonders für Centrosom und Strahlungen, während er das Chromatin nicht gut färbbar findet, Nedzwezki für Hühnerembryonen 15 Minuten lang, Römer für die Entwicklung der Haare und Schuppen, Frenzel für den Darmkanal und die Leber der Crustaceen, Henchmann für Larven von Limax maximus zum Studium der Gehirnentwicklung 2—3 Minuten lang, Petrunkewitsch für

das Herz von Agelastica (Redt.) alni L., Lefevre für Perophora, Kuczinsky für Brunner'sche Drüsen, Kingsley für das Auge von Crangon vulgaris, Montgomery für Holothurien (für feinere Strukturen nicht brauchbar), Hentschel für Spinnenaugen, Joseph für Amphioxus, Gerauld für Caudina arcuata, Mc. Murrich für Aktinien, denen er es plötzlich in den Mund einspritzt, $^1/_2$ Stunde lang, Kathariner für die Untersuchung des Giftzahnersatzes bei Schlangen, Sauer neben dem Carnoy-Gemisch für das Nierenepithel. Auf 55° erwärmtes Perényi-Gemisch wendet Mayer für Larven und Puppen nach der Eröffnung der Chitinhülle an.

Ein ähnliches Gemisch hat Schak angegeben, bestehend aus 300 Theilen Wasser, 10 Theilen Salpetersäure, 150 Theilen 10%igen Alkohol und 150 Theilen 2%iger Chromsäure; ferner für Chilopodengewebe Dubosq: gleiche Theile 1%iger Chromsäure, 1%iger Salpetersäure und 95%igen Alkohols. Durch Zusatz einer Spur Osmiumsäure hat Gedoelst das Gemisch zur Darstellung des Neurokeratinnetzes der markhaltigen Nervenfasern modificirt.

Salpetersäure-Chromsäure-Osmiumsäure s. Osmiumsäure, pag. 24.

Salpetersäure-Alkohol-Osmiumsäure s. Osmiumsäure.

Salpetersäure-Alkohol s. pag. 24.

Salpetersäure-Pikrinsäure s. Pikrinsäure, pag. 1108.

Salpetersäure-Pikrinsäure-Osmiumsäure s. Pikrinsäure, pag. 1108.

Salpetersäure-Pikrinsäure-Chromsäure s. Pikrinsäure, pag. 1107.

Salpetersäure-Sublimat s. Sublimat.

Salpetersäure-Sublimat-Alkohol s. Sublimat.

Salpetersäure-Sublimat-Alkohol-Essigsäure s. Sublimat.

Salpetersäure-Sublimat-Alkohol-Chromsäure s. Sublimat.

Salpetersäure-Sublimat-Essigsäure-Kochsalz-Alaun s. Sublimat.

Salpetersäure-Sublimat-Essigsäure-Alkohol-Kochsalz s. Sublimat.

Salpetersäure-Osmiumsäure s. Osmiumsäure, pag. 1058.

Salpetersäure-Salzsäure s. pag. 687.

Salpetersäure zum Entkalken s. pag. 652 ff.

Salpetersäure zum Maceriren s. pag. 751 ff.

Salpetersäure zum Entpigmentiren s. pag. 1106.

Salpetersäure zum Erweichen von Chitin s. pag. 123.

Litteratur: Lee und Mayer (Grundzüge, 1901, pag. 33), Burkhardt (Zeit. wiss. Zool., Bd. 52, 1891), Graf (Jen. Zeit. Naturw., Bd. 28, 1893), Zander (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), Seiler (citirt nach Fol, Lehrbuch 1896, pag. 112), Hesse (Zeit. wiss. Zool., Bd. 68, 1900), Perényi (Zool. Anz., 5. Jahrg., 1882), Tellyesniczky (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), Wheeler (Journ. of Morph., Bd. 3, 1889), Michel (Bull. Soc. Franç. Belg., Bd. 31, 1899), Cholodkovsky (Mém. Acad. St. Pétersbourg, Bd. 38, 1891), Heymons (Zool. Jahresber. f. 1893, 1895), Mayer (Zool. Jahrber. f. 1891), Spemann (Zool. Jahrb., Bd. 11, 1898), Butschinsky (Zool. Anz., Bd. 17, 1894), Kostanecki (Arch mikr. Anat., Bd. 51, 1898), Klinkowström (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1897), Meyer (Jen. Zeit. f. Naturw., Bd. 29, 1895), Nedzwezki (Arb. d. phys. med. Ges. Moskau, 1896), Römer (Jen. Zeit. f. Naturw., Bd. 30, 1896), Frenzel (Zool. Anz., Jg. 1882: Arch. mikr. Anat., Bd. 25, 1885), Henchmann (Bull. Micr. Comp. Zool. Cambridge, Bd. 20, 1890), Petrunkewitsch (Zool. Anz., Bd. 21, 1898), Lefevre (Journ. of Morph., Bd. 14, 1899), Kuczinsky (Int. Mts. Anat. Phys., Bd. 37, 1890), Kingsley (Journ. of Morph., Bd. 1, 1887), Montgomery (Zool. Jahrb., Bd. 10, 1897), Hentschel (Zool. Jahrb., Bd. 12, 1899), Joseph (Arb. a. d. Zool. Inst. d. Univ. Wien, Bd. 12, 1900), Gerauld (Bull. Mus. Comp. Zool. M. Harvard Coll., Bd. 29, 1896), Mc. Murrich (Journ. of Morph., Bd. 3, 1889), Kathariner (Zool. Jahrb., Bd. 10, 1897), Sauer (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), Mayer (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard, Bd. 29, 1890), Schak (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), Dubosq (Arch. zool. exp. (3), Bd. 6, 1899), Gedoelst (Cellule, Bd. 5, 1899).

Poll, Berlin.

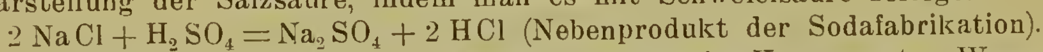
Salicylsäurekarmin siehe Karmin.

Salicylsäure, Acidum salicylicum, Orthooxybenzoësäure, findet sich neben ihrem Aldehyd in vielen Pflanzen, vor allem in Spiraeaarten. Sie wird heute ausschliesslich nach dem Vorgang von KOLBE aus Phenol, resp. Phenolnatrium dargestellt, indem man letzteres bei 100—250° durch Kohlendioxyd in salicylsaures Natron überführt. Die Säure krystallisirt in farblosen Nadeln, die sich bei 15° zu 0,22%, bei 50° zu 0,8%, bei 75° zu 2,5% in Wasser lösen. Viel leichter ist sie in Alkohol (1:2), Aether, Aceton, Chloroform und Glycerin löslich. Eisenoxydsalze färben Salicylsäurelösungen noch in grosser Verdünnung violett, Kupfersulfat grün. Die Säure bildet zwei Reihen von Salzen, von denen die neutralen durch Sättigen der Säure mit Karbonaten, die sauren durch Einwirkung ätzender Alkalien gebildet werden.

Die antiseptischen Eigenschaften der Salicylsäure werden auch in der Mikrotechnik vielfach zum Konserviren von Geweben und Farblösungen empfohlen. Die Salicylsäure ist ein geschätztes Macerationsmittel (s. dort). Von HEIDENHAIN ist sie in koncentrirter Lösung in Drittelalkohol auch als Fixationsmittel für das Darmepithel empfohlen worden.

Litteratur: M. HEIDENHAIN (Arch. mikr. Anat., Bd. 54, 1899).

Salzsäure, HCl (Acidum hydrochloricum, Chlorwasserstoff). Chlorwasserstoffsaure Salze, die sogenannten Chloride, sind in der Natur weit verbreitet; das bekannteste derselben, das Kochsalz, dient im grossen zur Darstellung der Salzsäure, indem man es mit Schwefelsäure zerlegt:


$2\,NaCl + H_2SO_4 = Na_2SO_4 + 2\,HCl$ (Nebenprodukt der Sodafabrikation).

Synthetisch entsteht Chlorwasserstoff, wenn seine Komponenten, Wasserstoff und Chlor, gasförmig zusammengebracht werden.

Das gebildete Chlorwasserstoffgas löst sich ausserordentlich leicht in Wasser, das bei gewöhnlicher Temperatur davon etwa 450 Theile, bei 0° mehr als 500 Theile absorbirt.

Eine solche gesättigte Lösung von Chlorwasserstoffgas in Wasser heisst Salzsäure. Die bei 15° gesättigte Lösung hat das specifische Gewicht 1,212 und enthält 42,9% HCl.

Die rauchende Salzsäure des Handels enthält ca. 38 Theile HCl und hat das specifische Gewicht 1,19. Die rohe Salzsäure, Acidum hydrochloricum crudum, enthält 30—33% HCl, daneben noch kleine Mengen von schwefliger Säure, Schwefelsäure, Chlor, Thonerde, Eisen und oft auch Arsen. Die officinelle reine Salzsäure hat ca. 25% HCl und soll frei von Arsen sein.

Die Salze der Chlorwasserstoffsäure sind zum Theil in Wasser löslich, wie die der Alkalien, Erdalkalien und vieler Metalle, einige aber darin unlöslich, resp. schwer löslich, nämlich die des Silbers, Quecksilberoxyduls und des Bleies.

Der Nachweis der Salzsäure erfolgt durch Silbernitratlösung, die damit einen weissen käsigen Niederschlag erzeugt, der in Ammoniak löslich ist und sich beim Stehen am Licht violett bis schwarz färbt.

Neuberg, Berlin.

Die Salzsäure wird in der Mikrotechnik vielfach benutzt, weil sie ein gutes Lösungsmittel für viele von uns benutzte Farbstoffe, vor allem für Karmin und Hämatoxylin ist (Näheres siehe in den betreffenden Artikeln). Aber auch viele andere Farbstoffe, auch Anilinfarben färben besser im sauren Bade und hier dient vielfach Salzsäure zur Ansäuerung. Salzsäure ist ein vorzügliches Macerations- und ein geschätztes Entkalkungsmittel. Hier wird sie meist nicht allein, sondern in Verbindung mit anderen

Agentien benutzt, welche die starke Quellung, die die Säure allein hervorruft, verhindern sollen, wie Alkohol, Chromsäure, Phloroglucin etc. Als Fixationsmittel eignet sich die Salzsäure gar nicht, da sie besonders auf den Kern destruirend einwirkt und, wie gesagt, enorme Quellung des Bindegewebes hervorruft.

Salzsäurekarmin siehe Karmin.

Sandarak, Resina Sandaraca, ein aus Callitris quadrivalvis, einer nordafrikanischen Cupressinee gewonnenes Harz, das in gelblichweissen, durchscheinenden Körnern in den Handel kommt. Es enthält hauptsächlich zwei Säuren, die Sandarakolsäure und die Callitrolsäure. Es schmilzt bei 150° und ist in heissem Alkohol (1:4), in Terpentinöl, Aether, Amylalkohol, Aceton und Schwefelkohlenstoff völlig löslich.

Der Sandarak besitzt ein geringeres Brechungsvermögen als der Kanadabalsam und ist in alkoholischer Lösung als Einschlussmittel empfohlen worden, doch hat er sich wenig Eingang verschafft.

Sandelholzöl, Oleum ligni santali, wird aus dem Holze des ostindischen Sandelbaumes (Santalum album) gewonnen und stellt ein dickflüssiges, gelbes Oel dar, das sich in 90—95%igem Alkohol in jedem Verhältniss löst und Celloidin nicht angreift. Sein Brechungsindex ist 1,510. Es besteht im wesentlichen aus Santalol und Santalal.

Von Neelsen und Schiefferdecker ist das Oel als Aufhellungsmittel und Intermedium für Paraffin empfohlen worden.

Sarkolemma siehe Muskeln, quergestreifte.

Sarkom siehe Geschwülste.

Sarkosporidien siehe Parasiten, thierische.

Sauerstoffnachweis durch Bakterienmethode. Die Eigenschaft gewisser Bakterienschwärmer, wenn sie durch Sauerstoffmangel zur Ruhe gekommen sind, bei Zutritt auch nur kleiner Mengen Sauerstoff sich lebhaft zu bewegen, hat zu ihrer Anwendung zum Studium geringer Sauerstoffausscheidungen geführt. Werden z. B. die sich lebhaft bewegenden Schwärmer aus einer Reinkultur von Bacterium Thermo aus Aufguss auf Heu, halbirten Erbsen oder Fleisch in Wasser unter das Deckglas gebracht, so hört sehr bald die Bewegung auf. Wird aber ein grüner Algenfaden, z. B. Spirogyra, mit hineingebracht, dauert an den grünen Partien im Licht durch den bei der Kohlenstoffassimilation frei werdenden Sauerstoff die Bewegung fort. Ein Mikrospektralobjektiv (Zeiss), das ein reales Spektrum in die Ebene des Präparates entwirft, gestattet dann, aus der Intensität der Bewegung auf die Assimilationsgrösse in den einzelnen Spektralbezirken Schlüsse zu ziehen.

Litteratur: Engelmann (Bot. Zeit., 1881, Pflüger's Arch., Bd. 27 u. 29).

Magnus, Berlin.

Scatol, Reaktion auf Verholzung siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Scharlach R siehe Fett.

Schellack, das gereinigte Harz verschiedener Mimosa- und Ficusarten Ostindiens, das infolge des Stiches der Lackschildlaus ausquillt. Dunkelbraune bis hellgelbe (gebleichter Schellack) Harzmassen, die in Alkohol, Alkalien, Borax, Aceton, Salzsäure, Essigsäure und Xylol löslich sind. Die alkoholischen Lösungen sind gewöhnlich trüb; um sie zu klären, giebt man

etwas Benzol zu und schüttelt ordentlich durch. Es scheidet sich dann über der trüben eine ganz klare Lösung ab. Durch längeres Kochen mit Natronlauge geht der Schellack in eine dickflüssige, in Alkohol und Aether leicht lösliche Masse über.

Der in der Technik so viel benutzte Schellack hat auch in der Mikrotechnik Verwendung gefunden, z. B. zum Einbetten und späteren Schleifen von Hartgebilden (siehe Knochen und Zähne), als Injektions- und Klebemasse und anderes mehr.

Schiessbaumwolle siehe Celloidin und Kollodium.

Schilddrüse. Bei der mikrotechnischen Bearbeitung der Schilddrüse handelt es sich im wesentlichen um zwei Hauptpunkte: tadellose Fixirung der Epithelzellen und gute Erhaltung des kolloiden Inhaltes der Follikel nebst färberischem Nachweis des Kolloids. Beide Momente lassen sich nicht immer mit einander vereinigen.

Wenn wir von den älteren Angaben absehen, so scheint für die tadellose Erhaltung des Follikelepithels das Sublimat die besten Dienste zu leisten. Es fixiren LANGENDORFF und ANDERSSON in koncentrirtem Sublimat, HÜRTHLE und FARNER in Sublimatessigsäure (Sublimat 3 Grm., Eisessig 3 Ccm., Wasser 100 Ccm.), KOHN in Sublimatalkohol oder Pikrinsublimat, FARNER in ZENKER'scher Flüssigkeit. Die Sublimatfixation hat aber, wie dies LANGENDORFF zuerst betont hat, den grossen Uebelstand, dass sie das Kolloid zur Schrumpfung bringt. Das kann am sichersten vermieden werden durch Verwendung von Osmiumsäure und Osmiumgemischen. So empfiehlt LANGENDORFF eine modificirte FLEMMING'sche Flüssigkeit (1%ige Chromsäure 25 Ccm., 1%ige Osmiumsäure 10 Ccm., Eisessig 1,5 Ccm.) 1—3 Stunden, HÜRTHLE und KOHN FLEMMING'sche Flüssigkeit, ANDERSSON dieselbe oder ALTMANN'sches Osmiumbichromat, GALEOTTI HERMANN'sche Lösung.

Um jede Schrumpfung zu vermeiden, fixirt SCHMID 24 Stunden im Dunkeln in Osmiumessigsäure nach FOL, wäscht mehrere Stunden in mehrfach gewechseltem Wasser aus, bringt in steigenden Alkohol bis 96%, dann 1/4 Stunde in kaltes und ebenso lang in warmes Toluol und 1/2 Stunde in Paraffin. Auf die schnelle Ausführung der Paraffineinbettung wird dabei grosses Gewicht gelegt. Von anderen Fixationsmethoden sind noch gelegentlich Alkohol (FARNER und GUTKNECHT), 10%iges Formol und Kaliumbichromat empfohlen worden.

Als Färbungsmethoden eignen sich für Sublimatpräparate vor allem Hämatoxylin kombinirt mit Eosin oder Orange, VAN GIESON-Färbung und BIONDI, für Osmiumpräparate Safranin-Gentianaviolett. Bei dieser Methode färbt sich das Kolloid tief violett, bei der BIONDI-Färbung orangeroth. GALEOTTI behandelt nach seiner Färbungsmethode (siehe Methylgrün).

Um das Kolloid in den Lymphgefässen der Schilddrüse nachzuweisen, legen VASSALE und DI BRAZZA die frischen Drüsenstückchen 10—15 Tage in VASSALE'sches Hämatoxylin-Orange (5 Grm. Chromalaun und 1 Grm. arsenige Säure werden in 100 Ccm. Wasser gelöst und je 0,2 Grm. Hämatoxylin und Orange zugesetzt. Nach 4 Wochen ist die Lösung verwendbar). Dann kommen sie in Alkohol, der so lange gewechselt wird, als er sich noch gelb färbt. Celloidineinbettung. Schnitte für mehrere Stunden in eine Mischung von 1 Theil MILLON'schem Reagens und 2 Theilen Glycerin, dann in reines Glycerin, Wasser, Alkohol, Karbolxylol, Balsam.

Die Nerven der Schilddrüse hat PEREMESCHKO zuerst durch Maceration in Holzessig, dann POINCARÉ durch Behandlung mit verdünnter Essigsäure mit Fuchsinzusatz dargestellt. Neuere Untersuchungen (ANDERSSON und CRISAFULLI) haben gezeigt, dass vor allem die GOLGI-Methode in der RAMON'schen Modifikation zu ihrer Darstellung gute Dienste leistet. SACERDOTTI lässt die

Stücke 3—4 Wochen in Osmiumbichromat liegen und wäscht dann so lange in halbgesättigter, wässeriger Kupfersulfatlösung aus, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Dann wieder 5—6 Tage in Osmiumbichromat und dann in die Silberlösung.

Litteratur: Langendorff (Arch. Phys., 1889), Hürthle (Pflüger's Arch. Bd. 56, 1894), Farner (Virch. Arch., Bd. 143, 1896). Kohn (Arch. mikr. Anat., Bd. 44, 1894), Andersson (Arch. Anat., 1894). Galeotti (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1896), Schmid (ebenda, Bd. 47, 1896), Gutknecht (Virch. Arch., Bd. 99, 1885), Vassale et di Brazza (Riv. sper. freniat. med. leg. Reggio Emilia, Bd. 20, 1894), Peremeschko (Zeit. wiss. Zool., Bd. 17, 1867), Poincaré (Journ. de l'anat. phys., 1875), Crisafulli (Bull. Acad. Gioenia. Catania, Nuov. Ser. 1892), Sacerdotti (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 11, 1894).

Schimmelpilze siehe Pilze.

Schizophycaceen siehe Cyanophycaceen.

Schleime, pflanzliche. Die pflanzlichen Schleime, inklusive Gummi, stehen ihrem chemischen Verhalten nach in engster Beziehung zu den Membranstoffen der Zelle. Die Cellulose-Pektin-Kalloseschleime zeigen das gleiche Verhalten wie die entsprechenden Membranstoffe gegen Reagentien und Färbemittel. Häufig kommen auch gemischte Schleime vor. Wundgummi giebt oft die Reaktion verholzter Membranen (siehe Zellmembranen der Pflanzenzelle). Sie sind alle in Wasser quellbar, müssen daher in Alkohol oder Glycerin untersucht werden, denen dann, um eine langsame Quellung herbeizuführen, langsam Wasser zugefügt wird. Sollen sie gefärbt werden, müssen sie vorher fixirt werden in Bleiacetat, Quecksilberacetat (dann nicht im sauren Bade färben), Eisenvitriol, Sublimat u. s. w., doch unterliegt die Wirkungsweise selbst bei nah verwandten Pflanzen grossen Schwankungen. (Näheres siehe bei Mangin, Bull. d. l. Soc. d. France, Bd. 41, 1894, Strasburger, Gr. Prakt., 3. Aufl., 1897.) Zur Färbung der schleimigen Gallertscheiden der Konjugaten werden schwache wässerige Lösungen von Methylenblau, Methylviolett und Vesuvin empfohlen. Zu ihrer Sichtbarmachung kann auch fein verriebene chinesische Tusche dem Untersuchungswasser beigemischt werden.

Litteratur: Klebs (Unt. d. bot. Inst. Tübingen, Bd. 1). *Magnus*, Berlin.

Schleimfärbung. Das Vorhandensein schleimigen Sekretes in Zellen und Ausführungsgängen von Drüsen ist auch ohne Anwendung specifischer Färbungsmethoden nachweisbar, wie aus verschiedenen grundlegenden Arbeiten hervorgeht, die noch vor der allgemeineren Verwerthung der Farbstoffe in der Histologie zur Publikation gelangt sind. Die bekannte Reaktion des thierischen Schleimes mit Essigsäure lässt sich nämlich auch auf Schnitte von frischen Drüsen und Schleimhäuten in Anwendung bringen. Schon durch verdünnte Lösungen dieser Säure wird intensive Trübung des Schleimes bewirkt, welche in koncentrirten Lösungen nicht schwindet; in alkalischen Flüssigkeiten löst sich dagegen der Schleim, der körnige Inhalt der Schleimzellen schwindet, letztere erscheinen hell und durchsichtig. Mineralsäuren bewirken nur in sehr stark verdünnten Lösungen eine Fällung des Schleimes. Es giebt aber auch Modifikationen des Schleimes, welche durch Essigsäure nicht gefällt werden, wie z. B. der Magenschleim nach v. Ebner (15, pag. 153). Dünne Schnitte von frischem Materiale lassen sich aber nur schwer herstellen, die Trübung des Sekretes in den Zellen erscheint bei der Einwirkung der Essigsäure nicht scharf umgrenzt, der übrige Zellkörper quillt auf und zeigt nicht die erwünschte prägnante Differenzirung seiner Bestandtheile und endlich ist auch die Reaktion an bereits konservirtem Materiale nicht mehr ausführbar, da der Schleim bereits gefällt ist.

Einen wesentlichen Fortschritt in der Erkenntniss der Sekretionsvorgänge in den Schleimdrüsen inaugurirte unter solchen Umständen bereits

eine Methode, welche die Möglichkeit bot, Kerne und Protoplasma der Schleimzellen durch intensivere Färbung deutlich zur Anschauung zu bringen und von dem das fast ganz ungefärbt bleibende Sekret einschliessenden Zellabschnitte abzugrenzen; in verschiedenen Stadien der Thätigkeit zeigten so die protoplasmatischen und sekretführenden Abschnitte der Schleimzellen wechselnden Umfang. Ein solches werthvolles Hilfsmittel boten die Lösungen von ammoniakalischem Karmin, Pikrokarmin und Böhmer'schem »Hämatoxylin« an Schnitten von meist in Alkohol erhärteten Objekten.

Den wichtigsten Erfolg für die Erforschung der Sekretionsvorgänge in den Schleimzellen erzielte jedoch die histologische Technik durch Auffindung von Farblösungen, welche den Schleim selbst intensiv und charakteristisch tingiren. Dieselben gestatteten das Studium der betreffenden Vorgänge an gut fixirten Elementen, möglichst dünnen Schnitten und bei scharfer Differenzirung der zarten Zellbestandtheile. Zu diesen Präparaten gehören einerseits gewisse Lösungen von Hämateïn, insbesondere die von Delafield, welche auch eine Kombination mit Kontrastfärbungen gestatten (die häufigste Verwendung fand in dieser Beziehung das Eosin), und andererseits eine ganze Anzahl von »basischen« Theerfarbstoffen. Die letzteren tingiren das schleimige Sekret in den Zellen meist intensiver als die übrigen Zellbestandtheile, aber meist in gleichem Farbton, nur eine kleine Anzahl derselben erzeugt eine abweichende Nuance der Färbung (»Metachromasie«).

Die physiologische Chemie liefert die Beweise, dass von verschiedenen Thieren und aus verschiedenen Organen und Geweben schleimartige Substanzen gewonnen werden, welche zwar mit Essigsäure die charakteristische Reaktion zeigen, aber im übrigen (auch in der elementaren Zusammensetzung) recht bedeutend von einander differiren. Ausserdem werden sowohl in den einzelnen Organen (z. B. dem Darmkanale), als auch in gemischten Drüsen (Schleimspeicheldrüsen) verschiedene andere Sekrete dem Schleim beigemischt. Endlich treten auch in derselben Zelle verschiedene Umwandlungsstufen des Schleimes unzweifelhaft neben und nach einander auf (»Mucin« und »Mucinogen« der Autoren), so insbesondere innerhalb der ersten Tage nach heftiger Entleerung des Schleimes infolge von Pilokarpininjektion. Andererseits weist aber die in den meisten Fällen ganz übereinstimmende Färbung des sowohl in den Zellen selbst, als auch in den Ausführungsgängen enthaltenen Sekretes darauf hin, dass zwischen dem vorräthigen und dem fertig ausgeschiedenen Schleim in den meisten Fällen kein wesentlicher Unterschied existiren dürfte. Die bis jetzt bekannten Hilfsmittel gestatten noch nicht eine sichere Unterscheidung verschiedener Schleimarten. Der Nachweis einer mucinartigen Substanz lässt sich nur ganz im allgemeinen führen und nur ausnahmsweise manifestiren sich durch differente Färbung einzelne abweichende Zustände des Sekretes (z. B. in den Mastdarmdrüsen des Kaninchens). Abstufungen in der Intensität der Färbung weisen meist auf Unterschiede in der Quantität des fertig angehäuften Schleimes hin, insbesondere in den Fällen, in welchen bei Anwendung verschiedener Schleimfärbemittel die demselben Block entstammenden Schnitte ein wesentlich übereinstimmendes Verhalten zeigen.

Sehr wesentlich für den guten Erfolg der verschiedenen Färbungsmethoden des Schleimes ist eine geeignete Fixirung der zu prüfenden Organtheile. Manche Färbungen erfordern eine ganz specielle Beizung der Objekte, damit die Farbwirkung zur Geltung gelange, welches Ziel in vielen Fällen schon durch gewisse Fixirungsflüssigkeiten erreicht wird. Wo es nur darauf ankommt, die Anwesenheit von Schleim überhaupt nachzuweisen, ohne dass auf die Differenzirung der subtileren Zellbestandtheile Gewicht gelegt wird, da kann direkte Härtung in Alkohol in Anwendung gebracht werden, nach welcher insbesondere die von P. Mayer angegebenen Farblösungen für

Schleim meist sichere Resultate geben. Bessere Fixirung bewirken koncentrirte Sublimatlösungen (in reinem Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung, mit oder ohne Zusatz von Alkohol, Essigsäure u. s. w.), welche am geeignetsten erscheinen für Färbungen mit den meisten Theerfarbstoffen und deren Gemischen, aber auch mit den Mayer'schen Farblösungen noch befriedigende Resultate liefern. Für sichere Fixirung der subtileren Bestandtheile der Zellen und ihres schleimigen Inhaltes ist ein ganz zuverlässiges Mittel bisher noch nicht bekannt; die besten Resultate hat man noch mit den Fixirungslösungen von Flemming und Hermann erhalten, nach welchen Hämateïnlösung von Delafield, Safranin, Gentianaviolett mit gutem Erfolge für Färbung des Schleimes zur Anwendung gelangten. Sehr brauchbar erscheint auch die Erhärtungsmethode von Kultschitzky [48]): Doppeltchromsaures Kalium 2 Theile, Quecksilbersublimat 0,25 Theile, 2%ige Essigsäure 50 Theile, 96%igem Alkohol 50 Theile; die Objekte bleiben in dieser im Dunkeln zu haltenden (vom gelben Niederschlage abfiltrirten) Lösung durch 6—8 Tage und werden dann in 85%igem Alkohol durch längere Zeit aufbewahrt und schliesslich in Paraffin eingeschmolzen. Zur Schnittfärbung empfiehlt Kultschitzky vorzugsweise Lösungen von Safranin G oder Neutralroth in 2%iger Essigsäure. Dr. Szleifstein in Warschau demonstrirte dem Referenten recht instruktive, nach der vorstehenden Methode erhaltene Präparate, aber auch Schnitte von gleichen Objekten, welche mit Mayer-schem Muchämateïn, Mucikarmin, Thionin gut gefärbt waren.

Es kann gegenwärtig kaum noch einem Zweifel unterliegen, „dass das zur Ausscheidung fertige schleimige Sekret in den Maschen des protoplasmatischen Zellkörpers vorwiegend in Form feiner oder auch gröberer »Körnchen« oder Kügelchen sich anhäuft, die erst bei ihrem Austritte aus der Zelle stark quellen und zu einer scheinbar homogenen Masse zusammenfliessen. Referent könnte hier eine Liste von über 30 Arbeiten aus den letzten 50 Jahren anführen, in welchen die körnige Beschaffenheit des frischen Inhaltes von Schleimdrüsen und Becherzellen als sicher hingestellt wird. Eine sichere Fixirung dieser Körner in der Zelle selbst ist aber bisher noch nicht erreicht. Die besten Resultate erhält man noch mit der von Paneth [80]), Langley [51]), v. Seiller [107]) und Bizzozero [6]) (1894, pag. 138) empfohlenen Pikrinsäure. Die anderen Fixationsmethoden erzeugen in den meisten Fällen den Anschein einer bei Anwendung von Schleimfärbemitteln zum Vorschein tretenden Netzstruktur des schleimhaltigen Zellabschnittes. Das Netz zeigt die gleiche Färbung wie das scheinbar aus langgezogenen Netzmaschen zusammengesetzte Sekret in den Ausführungsgängen der Drüsen. Die Vorstellung, als ob der Schleim in kleinen vakuolenartigen Maschen des Protoplasmanetzes sich ansammle und bei der Sekretion einfach aus der Zelle entleert werde, dürfte sich mit der Zeit als sehr unzureichend erweisen, wie sich zum Theil bereits aus den von M. Heidenhain [37]) an dem Oberflächenepithel des Magens gemachten Wahrnehmungen ergiebt. An der Bildung der Schleimkörner sind wohl auch die Protoplasmafasern betheiligt, deren Ueberreste noch in den Sekretkörnern der Eileiterdrüsen von Fröschen ohne Schwierigkeit sich nachweisen lassen (Referent [30]) pag. 352).

Wenden wir uns nun zu den von verschiedenen Autoren in Anwendung gebrachten speciellen Methoden der Schleimfärbung, so dürfen nach des Referenten Ueberzeugung die von P. Mayer [64]) angegebenen als die zuverlässigsten hervorgehoben werden. Verschiedene alaunhaltige »Hämatoxylinlösungen« sind zwar schon früher wiederholt zur Färbung des Schleimes in den Zellen mit gutem Erfolge in Anwendung gebracht worden, aber andere Forscher erhielten damit wesentlich nur Kern- und Protoplasmafärbung und nur unter gewissen, näher nicht ermittelten Bedingungen auch Schleimfärbung. Erst P. Mayer hat den Nachweis geführt, dass nur solche Lösungen von

Hämateïn (resp. oxydirtem Hämatoxylin) den Schleim sicher färben, welche nur relativ geringe Quantitäten von Thonerdesalzen enthalten, die eben nur zur Bindung der färbenden Substanz ausreichen. Lösungen mit einem bedeutenderen Ueberschuss von Alaun oder mit Zusatz von Säuren geben keine elektive Schleimfärbung. MAYER hat dann noch eine Vorschrift zur Herstellung einer Lösung von Hämateïn mit Aluminiumchlorid angegeben, welche eine stets sichere dunkelblaue Färbung des Schleimes bewirkt, und hat sie mit dem Ausdruck Muchämateïn bezeichnet. Die betreffende Vorschrift ist im vorliegenden Werke vom Erfinder selbst näher mitgetheilt in dem Artikel über Hämatoxylin.

Karmin in alkalischer Lösung sowohl, als auch in saurer und stark alaunhaltiger (nach den älteren Vorschriften), ferner mit Beimischung von Pikrinsäure (als »Pikrokarmin«), sowie auch die entsprechenden Lösungen von Cochenille liefern in den meisten Fällen keine intensivere Färbung des Schleimes. Zwar wurde mit »Cochenilletinktur« durch CARRIÈRE Schleimfärbung erhalten, aber P. MAYER hatte damit keinen Erfolg. Von letzterem [64]) rührt aber eine Vorschrift her zur Herstellung einer Lösung von Karmin mit Aluminiumchlorid, welche ständige Resultate liefert und von ihm als Mucikarmin bezeichnet worden ist. Die Herstellungsweise derselben ist in dem Artikel über Karmin im vorliegenden Werke nachzusehen.

Die MAYER'schen Präparate können in alkoholischen und wässerigen Lösungen verschiedener Koncentration in Anwendung gebracht werden und liefern ganz befriedigende Resultate auch bei Fixation der Objekte mit verschiedenen Mischungen. Die reinsten und klarsten Bilder liefern schwache Lösungen von 0,1—0,2% Gehalt an Karmin oder Hämateïn an in reinem Alkohol oder mit Sublimat fixirten Objekten. Eine ausreichende Färbung erfolgt schon nach wenigen Minuten, doch erhält man gute Resultate mit stark verdünntem Mucikarmin auch nach 24stündiger Einwirkung (z. B. nach der Fixation mit der KULTSCHITZKY'schen Mischung). Beide Präparate sind in guter Qualität von der bekannten Firma Dr. G. GRÜBLER & Co. in Leipzig zu beziehen. Beide färben meist ausschliesslich nur das schleimige Sekret, doch bewirkt die Hämateïnlösung in stärkerer Koncentration auch eine schwache Tinktion der Kerne. Will man auch andere Gewebsbestandtheile in den Schnitten gefärbt erhalten, so können die letzteren noch mit anderen entsprechenden Farblösungen behandelt werden. Zur Kernfärbung empfiehlt MAYER die Behandlung der Schnitte zunächst mit »Hämalaun« resp. »Parakarmin«, dann gutes Auswaschen mit Wasser und schliesslich Färbung mit Mucikarmin oder Muchämateïn. Vor letzterer können die mit Hämalaun tingirten Schnitte für einen Augenblick in starke Pikrinsäurelösung gebracht und darauf abgespült werden. Auch kann die Pikrinsäure der Lösung von Mucikarmin vor dem Gebrauche direkt beigefügt werden (5 Tropfen einer Lösung von 0,5 Pikrinsäure in 100,0 Wasser zu 50 Ccm. einer 0,1%igen Lösung von Mucikarmin). Zur Kontrastfärbung der Schnitte benutzt MAYER eine Lösung von 0,1 Indigokarmin in 50 Ccm. Wasser oder 5%iger Alaunlösung, von welcher $^1/_{20}$—$^1/_5$ Volum dem Hämalaun oder Karmalaun zugesetzt wird. Die mit den MAYER'schen Präparaten hergestellten Tinktionen sind sehr charakteristisch und haltbar, insbesondere die mit Mucikarmin; nur durch Säuren, Alaun und andere Thonerdesalze werden sie schnell vernichtet. — Als ausschliessliches chemisches »Reagens« auf Schleim können aber die MAYER'schen Präparate ebenso wenig angesehen werden wie die weiterhin zu erwähnenden Theerfarbstoffe. Sie färben in gleicher Weise wie diese die Grundsubstanz des Knorpels und gewisse Zellaggregate in der Unterkieferdrüse vom Igel, obgleich letztere nach den Befunden von R. KRAUSE [44]) keinen Schleim secernirt; andererseits färbt nach v. EBNER [15]) (pag. 153) Mucikarmin den Inhalt der Epithelzellen an der inneren Magen-

oberfläche, während der Magenschleim selbst mit Essigsäure keinen Niederschlag giebt.

Von Theerfarbstoffen ist in einem relativ sehr kurzen Zeitraum eine grosse Anzahl für Schleimfärbung allmählich in Anwendung gebracht worden (s. u.), so insbesondere violette, blaue, grüne und rothe Derivate des Rosanilins (Dahlia, Methyl- und Gentianaviolett, Anilinblau, Jodgrün, Methylgrün, Fuchsin), Azinfarbstoffe (Safranin, Neutralroth), Triamidobenzol (Bismarckbraun, Vesuvin), das schwefelhaltige Indamin: Methylenblau u. a. Es stellte sich bald heraus, dass nur von sogenannten »basischen« Theerfarben der Schleim elektiv tingirt wird, während die »sauren« Farbstoffe in den meisten Fällen keine intensivere, von den umgebenden Gewebsbestandtheilen auffällig abweichende Färbung erzeugen. Besondere Bedeutung für den Nachweis des Schleimes schienen einzelne dieser Präparate durch den Umstand zu erlangen, dass das schleimige Sekret in den Zellen durch ihre Lösungen in anderer Nuance gefärbt sich darstellte als Protoplasma und Kerne. Diese »Metachromasie« hängt wohl in den meisten Fällen ab von Beimengung anders gefärbter Derivate zu den fabrikmässig hergestellten Präparaten und wurde daher auch nicht ständig wahrgenommen selbst bei aus gleicher Quelle bezogenen gleichnamigen Produkten, so namentlich bei Jodgrün, Methylgrün, Methylviolett, Methylenblau. In dem von Unna[121, 122] angegebenen »polychromen Methylenblau« wird sogar durch Kochen mit Zusatz von geringen Alkalimengen eine theilweise Umsetzung der Grundsubstanz in Methylenroth und -violett absichtlich hervorgerufen. Auch andere künstlich hergestellte Farbmischungen liefern sehr instruktive distinkte Färbungen des Schleimes und anderer Zellbestandtheile; so insbesondere werden durch die Ehrlich'sche, von Biondi etwas modificirte, Dreifarbmischung die Zellkerne dunkel blaugrün, Schleim hellgrün, Protoplasma dunkelroth, Bindegewebe hellroth, Blutscheiben ziegelroth gefärbt. Die metachromatische Eigenschaft verschiedener Safranine und zur Thioningruppe gehöriger Stoffe dürfte jedoch keineswegs von solchen schon bei der Fabrikation entstehenden Beimengungen abhängen, sondern von der (chemischen?) Einwirkung der mit ihnen in innigeren Kontakt tretenden Stoffe.

Die Verwerthbarkeit der Theerfarbstoffe zu elektiver Tinktion des Schleimes ist vom Referenten[39]) an verschiedenen Elementen und Gewebsbestandtheilen vergleichend geprüft worden. Auf Grund dieser Versuche gelangte derselbe zum Schlusse, dass eine gewisse Anzahl dieser Farben sehr schätzenswerthe Hilfsmittel darbiete für Verdeutlichung vieler subtiler morphologischer Vorgänge in den Zellen bei der Schleimsekretion. Sehr intensive und meist zuverlässige Färbung des Schleimes liefern Phenylenbraun (Bismarckbraun, Vesuvin), Methylenblau, Bindschädler'sches Grün (Tetramethylindamin) u. a., aber der durch dieselben erzeugte Farbton differirt nur durch grössere Intensität von dem der umgebenden Gewebsbestandtheile. Da nun verschiedene schwefelhaltige Indamine, insbesondere das Thionin, Toluidinblau, Amethyst, den Schleim nicht nur intensiv färben, sondern ausserdem an mit Sublimat fixirten Objekten auch noch eine auffällige Metachromasie zeigen (der Schleim erscheint rothviolett, die übrigen Gewebsbestandtheile blau in verschiedener Intensität), so glaubte Referent, diese Präparate als am meisten geeignetes Hilfsmittel bei Untersuchungen über Schleimsekretion mit gutem Gewissen empfehlen zu können. Wenn auch durch dieselben Stoffe die Grundsubstanz des Knorpels, Körner der Mastzellen und amyloid entartete Organtheile in ganz ähnlicher Weise gefärbt werden, so konnte dieser Umstand ihrer Verwendung für Schleimfärbung nicht im Wege stehen, da diese Gebilde von schleimhaltigen Elementen leicht zu unterscheiden sind. Die Einführung des Thionins und der ihm verwandten Derivate als chemisches »Reagens« auf Schleim lag dem Refe-

renten durchaus fern. Derselbe hat das eben erwähnte Verhalten dieser Stoffe gegen Knorpel, Mastzellen und amyloide Substanz selbst bestimmt betont und ausserdem auch hervorgehoben, dass in einzelnen Fällen, wo die Anwesenheit von Schleim kaum einem Zweifel unterliegen konnte, negative Resultate damit erhalten wurden, z. B. an den Becherzellen des Oesophagus vom Frosche (welche bei späteren Versuchen mit Mucikarmin positive Resultate geliefert haben).

Gegen die Verwendbarkeit des Thionins für den Nachweis von Schleim ist von Krause[44]) (pag. 127) der Einwand erhoben worden, dass dieses Präparat auch das Epithel der Gallenblase und des Ductus cysticus intensiv roth färbe, obschon der sogenannte Gallenschleim kein echtes Mucin, sondern zu den Nukleoalbuminen zu zählen sei. Derselbe Autor hat ausserdem mit Thionin in der Submaxillardrüse vom Igel eine Rothfärbung von Drüsenzellen erhalten (pag. 124), obgleich das Sekret der Drüse keine Spur von Schleim enthielt. Dieselben Zellen färben sich mit Biondilösung blaugrün, mit Dahlia tief blau. P. Mayer[64]) (pag. 325) hat dieselben Zellen mit Muchämateïn, Mucikarmin, Bismarckbraun intensiv gefärbt. Hieraus wäre zu folgern, dass nicht blos Thionin, sondern alle eben erwähnten Präparate keine sicheren Mittel bieten zum Nachweise von Schleim. Wenn wir nun auch noch die Beobachtung von Krause an der Submaxillaris von Mangusten hinzufügen[45]) (pag. 714), bei welchen die Randzellen der Drüsenschläuche mit Biondilösung, Thionin, Methylenblau, Dahlia, Safranin, Mucikarmin und Muchämateïn sich wie Schleim färben, die übrigen Drüsenelemente dagegen wie Eiweisszellen, so dürfte wohl daraus die Vermuthung zu schöpfen sein, dass die charakteristische Färbung des Schleimes durch die erwähnten Stoffe bedingt wird durch eine demselben beigemengte, unter besonderen Umständen aber auch selbständig auftretende Substanz. Eine solche Substanz scheinen gewisse noch völlig unbekannte Verbindungen von Calcium mit organischen Stoffen darzustellen, welche der Einwirkung schwächerer Säuren bedeutenden Widerstand entgegenstellen. Zu Gunsten dieser Vermuthung zeugen: das häufige Auftreten von Calciumkarbonat im Schleim, der Nachweis von reichlichem Calcium im Sekret der Submaxillaris beim Igel nach Krause und ausserdem auch Wahrnehmungen des Referenten, welche weiter unten Erwähnung finden werden. — Die eben dargelegte Unsicherheit in der Verwerthung der besten Schleimfärbemittel ist zwar sehr bedauerlich, aber solange zuverlässigere Methoden noch ein pium disiderium bleiben, wird wohl kein Forscher bei Untersuchungen über Schleimsekretion derselben entrathen wollen. In zweifelhaften Fällen wird man zur Kontrolle mit der Essigsäurereaktion greifen müssen, obgleich auch diese zuweilen ihre Wirkung versagt. Eine genaue Erforschung der Eigenschaften des Mucins nach dem Muster der Schmiedeberg'schen Untersuchung über die Zusammensetzung des Knorpels (1891) wird wahrscheinlich erst die Grundlagen liefern zur Aufstellung sicherer Reaktionen auf Mucin.

Unter den vorläufig noch gegebenen Umständen wird auch die Thioningruppe einstweilen wohl noch ihren Werth behalten für die Untersuchungen über Schleimsekretion (natürlich unter gleichzeitiger Kontrolle mit den Mayer'schen Lösungen, anderen Theerfarben und nöthigenfalls auch der Essigsäurereaktion), da es die subtilen Zellbestandtheile besser und klarer zur Anschauung bringt als Mucikarmin und Muchämateïn. Die von verschiedenen Autoren erhobenen Einwürfe gegen die ausserordentliche Vergänglichkeit der Schleimfärbung mit Thionin, welche schon bei der Entwässerung der Schnitte mit Alkohol erfolgen soll, sind dem Referenten wenig begreiflich. Derselbe hat mit aus verschiedenen Quellen bezogenen Fabrikaten stets Färbungen erhalten, welche mindestens durch einige Tage, meist aber durch viele Wochen sich gut gehalten haben. Für Dauerpräparate

ist Thionin allerdings noch weniger geeignet als andere Theerfarben, lässt sich aber in dieser Beziehung meist gut ersetzen durch die MAYER'schen Präparate. — Die speciellen Vorschriften für Schleimfärbung mittels Thionin folgen weiter unten.

Becherzellen sind bereits im Jahre 1837 von HENLE wahrgenommen worden, weiterhin auch durch verschiedene andere Forscher, aber über ihre Bedeutung waren die Ansichten sehr getheilt. LEYDIG bezeichnete sie schon als Schleimzellen[56]), aber F. E. SCHULTZE[104, 105]) welcher über diese Gebilde die erste grundlegende Arbeit veröffentlicht hat, führte den seitdem allgemein verbreiteten Ausdruck »Becherzellen« ein, weil er nicht sicher war, ob auch alle diese Elemente Schleim secerniren. Zusammenstellungen der Litteratur über Becherzellen finden sich in den Arbeiten von EIMER[18]), LIST[59]), PANETH[80]), SARUBIN[96]), BRUEHL[9]).

Karmin. Verschiedenheiten der Speicheldrüsen in Bezug auf ihre Funktion sind bereits von CL. BERNARD hervorgehoben worden (OPPEL[79]), pag. 488). HENLE machte (nach HEIDENHAIN[31]) 1868, pag. 5) zuerst auf die Verschiedenheit der Elemente in Schleim- und anderen traubigen Drüsen aufmerksam, aber die genauere morphologische Charakteristik der Drüsen begann erst seit der Entdeckung der Randzellen (Lunulae) in der Unterkieferdrüse des Hundes durch GIANUZZI[26]), welcher mittels Karminfärbung diese Gebilde von den übrigen Drüsenzellen differenzirte. R. HEIDENHAIN[31, 33]) zeigte an Schnitten von in Alkohol gehärteten Speicheldrüsen verschiedener Thiere mittels der Färbung mit ammoniakalischem Karmin (nach BEALE) und später auch mit Pikrokarmin, dass ausser den Kernen aller Zellen die Randzellen in den Schleimdrüsen, die Körper der secernirenden Zellen in den serösen oder Eiweissdrüsen, sowie auch die kernhaltigen protoplasmatischen Theile der Schleimzellen stark roth gefärbt werden, während der schleimhaltige Abschnitt der letzteren fast ganz ungefärbt bleibt. Nach dauernder starker Sekretion infolge anhaltender Reizung der Drüsennerven nehmen auch die Körper der Schleimzellen stärkere Färbung an. Entsprechende Wahrnehmungen machte HEIDENHAIN[33]) auch an den Becherzellen der Mastdarmdrüsen von Hunden und Kaninchen. Im Zustande der Füllung blieb der schleimhaltige Zellabschnitt ungefärbt, nach heftiger Steigerung der Sekretion mittels Pilocarpin nahm der ganze Zellkörper stärkere Karminfärbung an. Die letzteren Versuche sind auch in der aus HEIDENHAIN's Laboratorium hervorgegangenen Dissertation von KLOSE[41]) beschrieben. Der wesentlich gleichen Methode bedienten sich auch A. HEIDENHAIN[35]), LAVDOWSKY[53]), PARTSCH[81]) und BEYER[4]), welche in demselben Laboratorium gearbeitet haben. PARTSCH benutzte auch Alauncochenille und »Hämatoxylin«; BEYER durchtränkte auch die ganze Drüse mit Pikro- und Alaunkarmin und schmolz sie in eine Mischung von Cetaceum und Ricinusöl ein. BERMANN[3]) durchtränkte die Speicheldrüsen mit glycerinhaltigen Lösungen von ammoniakalischem Karmin oder Alaun-Alkohol-Hämatoxylin (pag. 7) oder KLEINENBERG'scher Hämatoxylinlösung und schmolz in Paraffin ein, erwähnt aber nichts von einer specifischen Färbung der Schleimzellen. Zu gleichem Zwecke wurde Karminlösung auch von TERASZKIEWICZ[118]), GROT[28]), KULTSCHITZKY[47]), RANVIER[88]) (pag. 263, als Pikrokarmin) in Anwendung gebracht. Auch in der zweiten Mittheilung von LAVDOWSKY[54]) spielt dieselbe noch eine wesentliche Rolle. Die wichtige Entdeckung von zweierlei Drüsenformen in der Zunge durch v. EBNER[14]) beruhte ebenfalls zum Theil auf der Anwendung von ammoniakalischem Karmin nach Härtung der Objekte in Alkohol oder MÜLLER'scher Flüssigkeit; an Schnitten von in letzterer Lösung erhärteten Drüsen färbten sich die Schleimzellen mit Blauholzextrakt »in toto« lebhaft violett, die Kerne aber noch stärker (pag. 23).

Bei der ersten Anwendung von Hämateïnlösungen zur Färbung von Schleimzellen erhielten die Forscher zwar gute Tinktion der Kerne, schwächere des Protoplasmas, aber der Schleim blieb fast ganz ungefärbt; so PARTSCH[81]), LAVDOWSKY[53, 54]), PODWISOTZKY[86]), KLOSE[41]), KULTSCHITZKY[47]). PANETH[80]) (pag. 115) hebt sogar hervor, dass BÖHMER'sches Hämatoxylin für die Färbung der Theca von Becherzellen ganz unbrauchbar sei, dagegen erhielt er nach der Methode von R. HEIDENHAIN (reine Hämatoxylinlösung und einfach chromsaures Kalium) nach Härtung in Pikrinsäure schwache Färbung der Theca, nach FLEMMING-scher Lösung dunkelschwarze Tinktion. BIZZOZERO[6]) (I, pag. 221) machte darauf aufmerksam, »dass nach verschiedenen Formeln bereitete Hämatoxylinlösungen verschiedene Affinität zum Schleim haben«; die einen färben nur Kerne, andere auch den Schleim. Auch Referent[39]) erhielt mit Hämatoxylinlösungen meist nur Kernfärbung; nur mit DELAFIELD'schem Präparat gelang unter Umständen, die er nicht genauer zu eruiren vermochte, auch gute Schleimfärbung. ZERNER[128]) benutzte nach Fixirung mit FLEMMING'scher Lösung successive Färbung mit Hämatoxylin und Safranin; ersteres tingirt in den Schleimzellen die netzartigen Balken dunkel, letzteres die in deren Maschen enthaltene Substanz hellroth. WATNEY[125]) und KLEIN[40]) erachteten mittels Hämatoxylin gefärbte Schleimzellen für erfüllt mit ausgebildetem Mucin; wo dagegen die Färbung ausblieb, da sollte in den Zellen erst Mucinogen enthalten sein. R. HEIDENHAIN[33]) (pag. 64) citirt diese Angaben und ebenso BÖHM und DAVIDOFF[7]) (pag. 205). MÖBIUS[70]) färbte in der Niere vom Stichling Schleimfäden mit Hämatoxylin, die ungefärbt bleibenden Fäden betrachtete er als aus Mucigen bestehend. Gleiche Resultate erhielt BARFURTH[2]) (pag. 369) an den Schleimzellen des Darmkanals von Helix, Limax und Arion. Auch BÖHM und DAVIDOFF erwähnen in ihrem histologischen Lehrbuch[7]) (pag. 205), dass Mucin durch Hämatoxylin gefärbt wird, Mucigen dagegen nicht.

Die erste positive Angabe über Schleimfärbung in Zungendrüsen mit Hämatoxylin findet Referent in der Mittheilung von WATNEY[120]), dann bei FLEMMING[20]), welcher nach Osmiumfixirung die Manteldrüsen von Acephalen und Schleimdrüsen von Schnecken damit blau gefärbt hat; weiterhin in Mittheilungen von KLEIN[40]), welcher damit »Becherzellen« im Magen von Triton, auf Darmzotten und in der Trachea der Katze sich blau färben sah. Zu ausgedehnteren Untersuchungen über die Drüsen und Becherzellen in der Schleimhaut der Nase, Oberkieferhöhle, Zunge, Pharynx, Oesophagus, Trachea verschiedener Thiere und des Menschen, sowie über Speicheldrüsen benutzte PAULSEN[82–85]) das DELAFIELD'sche Hämatoxylin, vorzugsweise nach Osmiumfixirung. Die gleiche Methode wurde gleichzeitig auch von FLEMMING[21]) angelegentlich empfohlen, der dabei hervorhob, dass er dieselbe bereits seit 15 Jahren zur Schleimfärbung verwandt habe. Weiterhin benutzte die Färbung mit DELAFIELD'scher Hämatoxylinlösung STÖHR[113, 116]) bei seinen Untersuchungen von auf verschiedene Weise fixirten Schleimdrüsen; ebenso v. SEILLER[107]) für Zungendrüsen von Reptilien (Nachfärbung mit wässerigem Eosin). LIST[57, 58, 62]) empfahl Doppelfärbung mit RÉNAUT'schem Hämatoxylin-Glycerin mit Eosin oder salpetersaurem Rosanilin. LANGLEY[51]) färbte Zungenschleimdrüsen nach Härtung in Pikrinsäure und Alkohol auf Celloidinschnitten durch 12 bis 15 Stunden in stark verdünnter DELAFIELD'scher Hämatoxylinlösung.

In den letzten 10 Jahren ist dieses Präparat für Schleimfärbung wiederholt in Anwendung gebracht worden, so von CLOËTTA[11]) an Becherzellen des Darmes nach Fixirung mit FLEMMING'scher Lösung; von SACERDOTTI[94, 95]) nach HERMANN'scher Lösung; von FUCHS-WOLFRING[23]) an Drüsen des Kehlkopfes und der Luftröhre in Doppelfärbung mit Kongoroth nach Fixirung mit ZENCKER'scher Flüssigkeit; in gleicher Weise oder auch mit Eosinnachfärbung von SCHAFFER[97]) an Schleimdrüsen und Becherzellen in Celloidinschnitten verschiedener menschlicher Organe nach Härtung in verschiedenen Lösungen (MÜLLER'scher, Kochsalz-Sublimat-Pikrinsäure); von ZIMMERMANN[129]) an verschiedenen Schleimdrüsen vom Menschen und bei Thieren. LAGUESSE und JOUVENEL[49]) verwandten nach Härtung in Alkohol allein oder FLEMMING'scher Flüssigkeit zur Färbung von Schleimhaut und Speicheldrüsen von Menschen BÖHMER'sches Hämatoxylin oder Alaunhämatein mit Eosinnachfärbung. SOLGER[109, 110]) färbte die menschliche Unterkieferdrüse nach Härtung in Alkohol, Formol oder Sublimat in toto oder auf Schnitten mit Hämatoxylin nach DELAFIELD oder EHRLICH; desgleichen LANDEL[50]) Schnitte verschiedener mit Alkohol, Sublimat, Osmiumsäure oder FLEMMING'scher Lösung erhärteter Organe mit BÖHMER'schem oder DELAFIELD'schem Hämatoxylin oder Hämalaun nach MAYER; ebenso MAXIMOW[66]) Speicheldrüsen mit Hämatoxylin-Eosin nach Fixirung mit Sublimat. Endlich erwähnt RAWITZ[92]) (pag. 161) das Hämatoxylin als Schleimfärbemittel, desgleichen STÖHR[114]) (pag. 22) und v. EBNER[15]) (pag. 187). SARUBIN[96]) bezeichnet das Hämatoxylin als unbeständig und unzuverlässig.

Einen wichtigen Beitrag zur Verwerthung der Hämatoxylinlösungen für Schleimfärbung lieferte P. MAYER[64]) durch den Nachweis, dass diese Färbung beeinträchtigt wird durch einen Ueberschuss von Thonerdeverbindungen oder Säuren in den betreffenden Farblösungen, sowie durch die Aufstellung der Vorschrift zu seinem Muchämateïn, welches eine ständige Färbung des Schleimes bewirkt. — Gleichzeitig zeigte MAYER aber auch, dass selbst das Karmin in Verbindung mit relativ kleinen Mengen von Chloraluminium gute und sichere Färbung des Schleimes liefert, und gab die Vorschrift zur Herstellung seines Mucikarmins. Diese Präparate sind denn auch von verschiedenen Forschern bereits in Anwendung gebracht worden, so von KRAUSE[45]), NEUMAYER[72]), FUCHS, WOLFRING[23]), v. EBNER[15]), LAGUESSE und JOUVENEL[49]). HARRIS[30]) hat eine Vorschrift geliefert zur Herstellung des Muchämateïns aus Hämatoxylin durch Lösung desselben in einer wässerigen Solution von Chlorcalcium und Kochen mit Zusatz von etwas Quecksilberoxyd.

CARRIÈRE[10]) (pag. 389) verwandte zur Färbung der Schleimdrüsen von Gasteropoden »Cochenilletinktur«. Die Objekte waren in Chromsäure fixirt, mit Alkohol entwässert und in Paraffin eingeschmolzen. Der schleimige Inhalt wurde grau, die Kerne röthlich gefärbt.
MAYER[64]) erhielt damit keine ausgesprochene Schleimfärbung.
Die erste Mittheilung über Verwendung von Theerfarben bei Untersuchung von
Schleimdrüsen findet Referent in einer Abhandlung von ASP[1]), welcher an Schnitten von
Speicheldrüsen verschiedener Thiere mit Karmin und »Anilinblau« eine Doppelfärbung er-
halten hat, aber nur die Randzellen färbten sich violett, die Schleimzellen dagegen schwach
röthlich. BIEDERMANN[5]) tingirte Schnitte durch die Wand des in Alkohol erhärteten Magens
verschiedener Thiere mit »Anilinfarben«; Becherzellen im Darm und auf der Riechschleimhaut
blieben ungefärbt. R. HEIDENHAIN hatte bei seinen Untersuchungen über Magendrüsen[32])
Färbung mit ammoniakalischem Karmin und Anilinblau in Anwendung gebracht, erwähnte
aber nichts über Färbung des Schleimes in den Zellen des Epithels an der inneren Magen-
oberfläche. Das Gleiche ist auch in Bezug auf TRINKLER's Arbeit[120]) zu bemerken. EHRLICH[16])
machte in seiner Mittheilung über die specifische Färbung gewisser Plasmazellen im Binde-
gewebe auch Bemerkungen über die Färbung des Mucins, insbesondere in den Becherzellen,
mittels gewisser Theerfarben (vorzugsweise des Dahlia); in einer zweiten[17]) bezeichnete er
die betreffenden Bindegewebselemente als »Mastzellen« und die an solchen sich bemerkbar
machende Aenderung der Farbnuance als metachromatische. PODWISOTZKY[86]) benutzte
Lösungen von Theerfarben in Kreosot zur Tinktion von Zungendrüsen, insbesondere »Rosanilin«
Fuchsin, »Anilin-Jodgrün«, Anilinblau und erhielt damit gute Färbungen der Schleimzellen,

weshalb er die betreffenden Farbstoffe geradezu als mikrochemische Reagentien bezeichnete (pag. 31). Die Arbeiten von Raudnitz[90]) und Nordmann[76]) geben bei Besprechung der Mastzellen auch kurze Notizen über Färbung von Schleimdrüsenzellen mit Theerfarben (erstere mit Violett B, letztere mit Dahlia, Methylviolett, Gentiana, Methylenblau, Fuchsin). Auch von Stöhr wurde Dahlia zur Färbung von Schleimdrüsen benutzt.[112]) Vorher hatte aber Schiefferdecker[98]) bereits einen ausführlichen Artikel veröffentlicht über Verwendung von Theerfarben für histologische Zwecke, insbesondere über Doppelfärbungen von Schnitten in Alkohol erhärteter Objekte mittels Eosin und darauf mit Dahlia, Methylviolett oder Anilingrün. Er erhielt mit diesen basischen Präparaten schöne Färbungen von Schleimdrüsen und Becherzellen. Weitere Publikationen desselben Autors über die Verwendung der gleichen Kombinationen zur Färbung von Mundschleimhaut- und Speicheldrüsen, von einzelligen Drüsen in der Harnblase der Amphibien, erfolgte zwischen 1884 und 1886.[99–102]) Gleichzeitig veröffentlichte List eine Reihe von Mittheilungen über Färbung von Becherzellen mit Bismarckbraun, Methylgrün, Anilingrün, salpetersaurem Rosanilin, sowie mit Kombinationen derselben unter einander und mit Eosin. Damit wurde der Anstoss gegeben zu ausgedehnter Anwendung verschiedener Theerfarbstoffe durch verschiedene Forscher zur Tinktion schleimhaltiger Elemente.

Dekhuyzen hob bereits 1886[12]) hervor, dass das Mucin »basophil« sei, d. h. es werde durch basische Theerfarbstoffe tingirt. Demnächst betonte Sussdorf[117]) die schleimfärbende Eigenschaft dieser Präparate; zur Färbung von Schnitten von Speicheldrüsen, Darm- und Trachealschleimhaut von Pferd und Katze benutzte er Methylviolett, Gentianaviolett, Methylenblau und Fuchsin. Weiterhin stellte auch Rawitz[91]) (pag. 48) den Satz auf: »Die basischen Anilinfarben zeigen eine ungemeine Affinität zu Mucin, stark mucinhaltige Organe werden in ihnen intensiv und dauerhaft gefärbt.« Lavdowsky[54]) bemerkt: Schleimzellen färben sich mit »Anilinpräparaten«; Paneth[80]) erachtete saure Farben für unzweckmässig zur Schleimfärbung; Referent[39]) unterwarf die schleimfärbenden Eigenschaften einer grossen Reihe von Theerfarben einer eingehenden vergleichenden Prüfung und gelangte ebenfalls zu dem Schlusse, dass der Schleim nur durch basische Präparate intensiv und zum Theil sehr charakteristisch gefärbt werde, während die sauren entweder gar keine oder höchstens relativ schwache Färbungen des Schleimes bewirken, welche von der der umgebenden Gewebselemente nicht wesentlich differiren. Gute Schleimfärbung erhielt er mit Methylenblau und Phenylenbraun, aber am meisten geeignet für Untersuchungen über Schleimsekretion erschienen ihm das Thionin und verschiedene Derivate desselben, insbesondere das Toluidinblau, wegen ihrer metachromatischen Eigenschaft, indem an Schnitten von Objekten, die in Sublimat fixirt waren, Kerne und Zellprotoplasma blau, der schleimige Zellinhalt dagegen rothviolett gefärbt wurden.

Demnächst erschien eine Reihe von Arbeiten, welche gleichfalls eingehende vergleichende Untersuchungen der schleimfärbenden Eigenschaften verschiedener Präparate zum Gegenstande hatten: so die von Struiken[116]), P. Mayer[64]), Sarubin[96]) und Landel[50]), in welchen auch die Angaben des Referenten berücksichtigt, in Bezug auf den Werth der Thioninfärbung für den Nachweis des Schleimes kritisch erörtert und in Frage gestellt, aber doch hinsichtlich ihres Thatbestandes im wesentlichen bestätigt wurden. Die wichtigste von diesen Publikationen ist die von P. Mayer[64]), welche die oben bereits speciell dargelegten Vorschriften zur Schleimfärbung lieferte. — Zur Färbung der Schnitte von auf verschiedene Weise fixirten Darmstücken benutzte Struiken vorzugsweise die Ehrlich-Biondi'sche Mischung und ausserdem kombinirte Färbung mit Boraxkarmin, Azoblau (oder Indulin), Bismarckbraun oder dieses mit »saurem Hämatoxylin«. Sarubin härtete verschiedene Organe, insbesondere aber die Kloakenschleimhaut von Fischen und die Pars prostatica (Cowper'sche Drüsen) verschiedener Thiere mittels der Kultschitzky'schen Mischung (s. o.) und färbte vorzugsweise mit Lösungen von Safranin oder Neutralroth in 2% iger Essigsäurelösung. Landel hat eine grosse Reihe von Farbstoffen an verschiedenen (auch pathologischen) Objekten, nach verschiedenen Fixationen und mannigfach variirten Kombinationen durchprobirt. Schleimzellen in verschiedenen Körpertheilen zeigen nach seinen Versuchen ein sehr verschiedenes Verhalten und färben sich am besten mit in jedem Einzelfalle auszuprobirenden Kombinationen. Die besten Resultate erhielt er mit Viktoriablau und Rubin S oder auch Safranin, mit Safranin in Verbindung mit Hämatoxylin, Pikrinsäure oder Lichtgrün und Säureviolett. Mit sauren Farben erhielt er negative Resultate (pag. 28).

Mehrfachfärbungen sind auch von sehr zahlreichen anderen Forschern in Anwendung gezogen worden, insbesondere wurde das Eosin zur Unterfärbung der Gewebselemente neben der Schleimfärbung mit basischen Präparaten benutzt. So ist die Kombination von Eosin mit Hämatoxylin und Anilingrün oben bereits erwähnt; daneben gelangte das Eosin aber auch neben den violetten, blauen und anderen grünen Farbstoffen zur Verwendung. M. Heidenhain[36]) kombinirte Gentiana mit Lichtgrün oder Orange-Gentiana. Als eine der instruktivsten Mehrfachfärbungen, welche sehr schöne, jedoch im ganzen wenig dauerhafte Präparate liefert, ist die Ehrlich-Biondi'sche Mischung sehr vielfach zur Anwendung gelangt. Dieselbe liefert aber gute Färbungen nur nach Fixirung mit Sublimat. Sie ist an Darmschnitten von R. Heidenhain[34]), Bizzozero[6]) (I, pag. 236, 239), Cloetta[11]), Struiken[116]), Nicoglu[73]) an Hautdrüsen von Fröschen, R. Krause[44, 45]) und Maximow[68]) an Speicheldrüsen, Schaffer[97]) an Darm- und Gaumendrüsen in Anwendung gezogen worden. Landel[50]) erhielt damit wenig befriedigende, Sarubin[96]) schlechte Resultate.

Was nun die Verwerthung der einzelnen Theerfarben anbetrifft, so müssen wir uns auf eine gedrängte Aufzählung derselben und Anführung der Autoren beschränken, welche dieselben in Anwendung gebracht oder empfohlen haben.

Nächst Anilingrün (Schieffersdecker, List) ist Jodgrün mehrfach zur Schleimfärbung benutzt worden: Podwisotzky[80]), Flesch[19]), Griesbach[27]), Paneth[80]) (pag. 117), dann Methylgrün: List[59]), Bizzozero[8]), Struiken[116]), M. Heidenhain[36]), Galeotti[24]), P. Mayer[64]). Schieffersdecker[102]) (pag. 42) führt eine ganze Reihe von ihm geprüfter grüner Farbstoffe auf, unter welchen das Methylgrün OO am meisten Uebereinstimmung zeigte mit dem von ihm zur Färbung der Schleimzellen besonders empfohlenen Anilingrün; letzteres ist übrigens verschieden von dem von List benutzten. Racowitza[87]) durchfärbte den Körper kleiner Würmer und Nacktschnecken mit Methylgrün, mit Zusatz von sauren Kupferlösungen.

Dahlia wurde ausser von Ehrlich[16]) auch von Schieffersdecker[99]) (mit Eosin), von Stöhr[112, 113]) (mit Karmin), M. Heidenhain[36]) (an Hautdrüsen der Amphibien), Krause[45]) (an Speicheldrüsen) in Anwendung gebracht. Nach Grünhagen[29]) sollte sich die Theca von Becherzellen mit Dahlia nicht färben.

Methylviolett findet Erwähnung bei Schieffersdecker[98]), Sussdorf[117]), Struiken[116]), M. Heidenhain[36]), P. Mayer[64]), Schaffer[97]), Sarubin[96]). Gentianaviolett: bei Flemming[21]), Sussdorf[117]), Paneth[80]), Böhm und Oppel[8]), Struiken[116]), M. Heidenhain[30]), Landel[50]), Sarubin[96]). Viktoriablau wird von Landel empfohlen.

Fuchsin wurde benutzt von Podwisotzky[88]) für Zungenschleimdrüsen, von Carrière[10]) für Schleimzellen bei Schnecken, von Sussdorf[117]). List[59]) benutzte Salpetersaures Rosanilin zur Färbung von Becherzellen (kombinirt mit Bismarckbraun). Die Wirkung von echtem Magdala prüften Referent[39]), Landel[50]) und Sarubin[90]).

Safranin wurde zuerst von Flemming[21]) zu Schleimfärbung verwandt, der nach Fixirung mit Osmium Becherzellen rothbraun gefärbt erhielt. Zerner[128]) färbte Speicheldrüsen nach Fixirung mit Flemming'scher Lösung mit Hämatoxylin und Safranin (s. o.), Paneth[80]), erhielt nach Härtung mittels Pikrinsäure braunrothe bis rostfarbige Tinktion der Bechertheca. Steinhaus[111]) fand an Paraffinschnitten von in Sublimat fixirten Darm von Salamandra nach konsekutiver Färbung mit Böhmer'schem Hämatoxylin, Nigrosin, Eosin und Safranin den Schleim in den Becherzellen orangeroth tingirt. Dasselbe beobachtete Referent[39]) nach Sublimatfixirung an Schleimzellen verschiedener Organe. Wesentlich damit übereinstimmend lauten auch die Angaben von Böhm und Oppel[8]), v. Seiler[107]), Struiken[116]), Cloetta[11]), Krause[45]), Böhm und Davidoff[7]), v. Ebner[15]) und M. Heidenhain[36]). Von wesentlichem Einfluss auf das Resultat, insbesondere den Ton, der Safraninfärbung ist die Fixirungsweise der Objekte, dagegen nebensächlich die Lösung der Farbe in Wasser oder in mehr oder weniger wasserhaltigem Alkohol, sowie deren Koncentration. Nach Flemming'scher oder Kultschitzky'scher Mischung nimmt der Schleim eine mehr blauviolette oder schmutzige Färbung an, so nach den Mittheilungen von Paneth[80]), Lankowsky[52]), Sarubin[96]), Landel[50]), Nicolas[74]), Sacerdotti[91]) (nach Hermann'scher Flüssigkeit). Landel erhielt aber an den Becherzellen des Rektums von Kaninchen theils violette, theils rothe Färbung des Schleimes. Nach Mayer[64]) (pag. 316) erhält man diese violette Schleimfärbung durch Ausziehen stark tingirter Schnitte mit angesäuertem Alkohol oder durch Färbung mittels starker mit Salzsäure schwach versetzter Safraninlösung. Die Gelbfärbung des Schleimes nach Safranin ist nach Bizzozero[6]) (II, pag. 240) nur schwer zu konserviren; sie schwindet so leicht, dass Bizzozero es für zweckmässig ansah, die Schnitte in verdünnter Farblösung unter dem Mikroskope zu untersuchen. Am besten erhielt sich die Färbung in Zuckersyrup. Maximow[66]) fixirte Speicheldrüsen von Hunden in Hermann'scher oder Flemming'scher Lösung, letztere mit Zusatz von Sublimat; Nachfärbung mit »Lichtgrün« nach dem Safranin lieferte eine dunkelgrüne Tinktion der Körner in den Schleimzellen.

Phenylenbraun (Bismarckbraun, Vesuvin) ist von zahlreichen Forschern als den Schleim intensiv färbendes Präparat anerkannt worden, nachdem es zunächst von List[56–59]) für Becherzellen empfohlen war, so durch Hermann[33]) (kombinirt mit Karmin am Mundepithel von Salamanderlarven), Paneth[80]), Rawitz[91]), Bizzozero[8]) (I), Böhm und Oppel[8]), Schaffer[97]), Struiken[116]), Mayer[64]), Sarubin[98]) und Landel[50]).

Methylenblau wurde von Sussdorf[117]) an Schleimdrüsen, von Paneth[80]) an Becherzellen in Anwendung gebracht, vom Referenten[39]) als gutes Schleimfärbemittel bezeichnet. Weiterhin benutzen dasselbe: v. Seiller[107]) an Becherzellen nach Fixirung mit Osmiumdämpfen, Cloetta[11]), M. Heidenhain[36]), Struiken[116]), Mayer[64]), Krause[45]), Théohari[119]) an Magenepithel nach Fixation mit Formol; Sarubin[96]) erhielt damit an Becherzellen keine Färbung.

Das polychrome Methylenblau von Unna[121–124]) färbt den Schleim sehr intensiv und infolge der künstlich hervorgerufenen Beimischung von Methylenroth und -violett, auch ausgesprochen metachromatisch (roth). Die besten Resultate liefert es an Schnitten nach Alkoholhärtung. Nach der Einwirkung der koncentrirten Farblösung müssen die Schnitte auf etwa $1/2$ Minute in Lösungen gewisser anderer Stoffe übertragen, mit Wasser abgespült, in Alkohol zum Theil entfärbt, entwässert und in Balsam eingeschlossen werden. Die vergleichende Tafel dieser die Entfärbung befördernden und gleichzeitig den Farbstoff fixirenden Stoffe ist im Originale nachzusehen. Hier sei nur erwähnt, dass die besten Resultate verdünnte Glycerinäthermischung, Alaunwasser und 10%ige Lösung von Kaliumdichromat liefern.

Ausser Schleimdrüsen und Mastzellen hat UNNA mittels seiner Lösung auch im Centralnervensystem und Neurofibromen eigenthümliche »Mucinkörper« tingirt. Das UNNA'sche Präparat wird von MAYER[64]) (pag. 314) lobend erwähnt; auch Referent hat dasselbe sehr wirksam gefunden.

Thionin und Toluidinblau. Das Thionin wurde nach der Vorschrift des Referenten[39]) im histologischen Laboratorium der Warschauer Universität in Anwendung gebracht: von KUCZYNSKI[40]), SEIDENMANN[100]) und MAJEWSKI[63]), demnächst von M. HEIDENHAIN[36]) und NICLOGU[73]) an den Hautdrüsen von Amphibien. Von UNNA[123-125]) wurde es einer Prüfung unterzogen, aber weniger zuverlässig befunden als sein polychromes Methylenblau. Weiterhin auch von P. MAYER[64]), von R. KRAUSE[44, 45]), KULTSCHITZKY[48]), SARUBIN[96]), LANDEL[50]), ZIMMERMAMN[129]), STRUIKEN[116]), BÖHM und DAVIDOFF[7]), MAXIMOW[60]) erwähnen das Toluidinblau. Von fast allen diesen Autoren wird über die ungemeine Vergänglichkeit der durch diese Präparate erzeugten rothvioletten Schleimfärbung geklagt, welche schon bei der Entwässerung in Alkohol erfolgen soll, und sind zur Abhilfe verschiedene Mittel vorgeschlagen worden. NICOGLU und MAXIMOW untersuchten die Schnitte unmittelbar in der Farbflüssigkeit, ausserdem behandelte letzterer die mit Toluidinblau gefärbten Schnitte noch durch drei Minuten mit einer starken wässerigen Orangelösung, wonach die Schleimfärbung durch den Alkohol nicht mehr so stark ausgezogen wurde. KRAUSE[44]) brachte die mit Thionin gefärbten Schnitte auf gleiche Zeit in eine koncentrirte wässerige Lösung von Ferrocyankalium und dann nach Abspülen in Alkohol. UNNA[124]) benutzte in analoger Weise Lösungen von Kaliumdichromat. Bei Nachprüfung hat Referent mit diesen Methoden wenig befriedigende Resultate erhalten. Am meisten scheint jedoch die Lösung von gelbem Blutlaugensalz zu versprechen. P. MAYER[64]) (pag. 320) und ZIMMERMANN[129]) (pag. 594) schalten die Ausziehung der gefärbten Schnitte mit Alkohol in der Weise ganz aus, dass sie die noch mit Paraffin durchtränkten Schnitte in die Thioninlösung bringen, in welcher die Aufnahme des Farbstoffes erfolgt; darauf werden die Schnitte mit Wasser abgespült, auf Objektträger übertragen, angeklebt, getrocknet, mit Xylol ausgezogen und in Balsam eingeschlossen.

Die gerügte Vergänglichkeit der Schleimfärbung mit Thionin oder Toluidinblau bei der Entwässerung in Alkohol hat Referent auch bei neueren Versuchen nur ausnahmsweise wahrgenommen und vermag dieselbe nicht näher zu erklären. Nach Verlauf von mehreren Wochen oder Monaten sind aber auch des Referenten Dauerpräparate alle abgeblasst.

In der jüngst veröffentlichten Mittheilung von HARI[130]), welche erst nach Niederschrift des vorliegenden Artikels in die Hände des Referenten gelangt ist, giebt der Verfasser folgende Vorschrift zur Herstellung einer guten Schleimfärbung mittels Thionin: Die Objekte werden in gesättigter (7%iger) Lösung von Quecksilbersublimat in 0,5%iger Kochsalzlösung fixirt und in Celloidin eingebettet. Das Celloidin an den Schnitten ist mittels Aethers und Aetheralkohols zu lösen, der Rest des Aethers durch absoluten Alkohol zu beseitigen. Darauf werden die Schnitte konsekutiv für 3 Minuten in Wasser, für 10—12 Minuten in die oben erwähnte Sublimatlösung, je $^1/_2$ Minute in Alkohol absolutus und Wasser, 3—4 Minuten in 1%ige Thioninlösung, 2—3 Minuten in reines Wasser, 1—2 Minuten in absoluten Alkohol übertragen. Entfärbung wird bewirkt in einem Gemisch von 1 Theil Karbolsäure, 2 Theilen Xylol und 3 Theilen Nelkenöl durch etwa 1 Minute oder auch länger, bis zu entsprechender Aufhellung. Die Karbollösung ist durch Spülen in reinem Xylol (etwa 1 Stunde) völlig zu beseitigen. (Einschluss in Balsam? Ref.) Die Präparate halten sich bis zu einigen Monaten. Bei der Untersuchung der fertigen Präparate unter dem Mikroskope erwies sich als sehr zweckmässig die Beleuchtung mit elektrischem oder Gasglühlicht, in welcher die metachromatische Färbung besonders deutlich zum Vorschein tritt. Mittels dieser Methode hat HARI[131]) gute Färbung des schleimigen Zellinhaltes im Oberflächenepithel des menschlichen Magens erhalten. Bei demselben Autor sind die Arbeiten von WARBURG[134]), SCHMIDT[133]) und OKADA[132]) citirt, welche gleichfalls das Thionin zur Schleimfärbung in Anwendung gebracht haben. Dieselben waren dem Referenten nicht zugänglich.

Die nach den Angaben der eben erwähnten Autoren bei der Anwendung des Thionins für Schleimfärbung sich geltend machenden Unzulänglichkeiten dieses Präparates haben sich dem Referenten bei seinen eigenen zahlreichen Versuchen kaum bemerkbar gemacht. Sie veranlassen ihn jedoch zu erneuter Darlegung der Methode, wie er sie auch in neuerer Zeit mit Erfolg in Anwendung gebracht hat. Zur Fixirung der Objekte benutzte er nur reine 5%ige Lösung von Quecksilbersublimat, um störende Niederschläge möglichst zu vermeiden, und dehnte aus gleichem Grunde die Einwirkung, je nach dem Umfange der Objekte, nicht über 3—12 Stunden aus. Die Niederschläge dürfen durch Jod nicht beseitigt werden, da durch dasselbe die Färbung stark beeinträchtigt wird. Der Zusatz von Chlornatrium zum Sublimat schien auf den Erfolg der Färbung keinen wesentlichen Einfluss auszuüben. Ausserdem hatte Referent durch eigene Versuche sich überzeugt, dass durch den Zusatz einer grösseren Quantität von Kochsalz zur Sublimatlösung deren saure Reaktion und damit auch die fixirende Wirkung aufgehoben wird. Zusatz von Säuren zu Sublimat übt eine nachtheilige Wirkung auf die Färbung aus. Nach erfolgter Fixation wurden die Objekte mit Wasser kurz abgespült und in stärkeren (90—96%igen) Alkohol übertragen, welcher mehrmals gewechselt wurde. Nach Entwässerung in absolutem Alkohol gelangten sie auf 3—6 Stunden in (säurefreies) Chloroform, auf 1—2 Stunden in Chloroform mit geschmolzenem Paraffin in gleichem Volum, schliesslich auf 3—6 Stunden in reines Paraffin, welches während dieser Zeit mehr-

mals gewechselt wurde. Die Schnittserien wurden mittels 33,3%igen Alkohols auf Glimmerplatten aufgeklebt. Nach dem Trocknen gelangten kleine Ausschnitte der Platten mit je 4—6 Schnitten der Reihe nach auf je eine Minute in Xylol, Chloroform, 96%igen Alkohol, 5%ige Sublimatlösung, wurden in Wasser oder Alkohol kurz abgespült und endlich in die Farblösung übertragen.

Letztere wurde hergestellt durch Zusatz von 2—3 Tropfen einer koncentrirten wässerigen Lösung von Thionin zu 5 Ccm. Wasser. Eine wesentlich stärkere Koncentration der Farblösung schien dem Referenten nicht zweckmässig, da sie die Differenzirung der Gewebsbestandtheile in den Schnitten erschwerte. (Die vorräthige koncentrirte Thioninlösung hielt sich besser bei Zusatz von etwa 10% Alkohol.) Nach erfolgter Färbung wurden die Schnitte unmittelbar in 96%igem Alkohol abgespült (in welchem Thionin sich leicht löst, derselbe darf aber keine Spur von Säuren oder Alkali enthalten); in einem zweiten Schälchen mit reinem gleich starken oder absoluten Alkohol wurden die Schnitte darauf durch 1—2 Minuten entwässert, in einer Mischung aus 4 Theilen Thymianöl und 1 Theil Nelkenöl aufgehellt und gleich darauf in ein Schälchen mit etwas eingedicktem Cedernholzöl oder Terpentinöl übertragen. In letzterem gelangten die Präparate entweder alsbald zur Untersuchung oder wurden auch durch Wochen darin belassen und darauf erst in Balsam eingeschlossen. Nach den Erfahrungen des Referenten konservirt ein solches Verfahren Tinktionen mit Theerfarben besser als unmittelbare Uebertragung der Schnitte aus Xylol in Balsam.

Zu den oben bereits gemachten Bemerkungen über die Beziehung von Calciumverbindungen zur metachromatischen Färbung des Schleimes durch Thionin ist noch folgendes nachzuholen: Nach den Wahrnehmungen von Nicoglu[73]) (pag. 420) färben sich auch die Körperchen des Gehirnsandes mit Thionin roth. Referent selbst konstatirte wiederholt eine gleiche, intensive Färbung der Kalkkonkremente in den Gelenkknorpeln von Fröschen. Griessbach[27]) sagte: »Der violette Farbstoff, welcher im Muschelorganismus durch den starken Kalkgehalt der Gewebe und des Blutes aus dem Jodgrün entstehe, sei die durch Zersetzung entstandene Basis des Salzes.« Endlich hat Referent auch einige eigene Versuche angestellt über das Verhalten von Thionin und anderer Schleimfärbemittel zu frisch gefälltem Calciumphosphat. Der auf kleinen Filtern gesammelte gut ausgewaschene Niederschlag absorbirte die Farben sehr energisch, basische Theerfarben und die Mayer'schen Lösungen widerstanden dem Auswaschen mit destillirtem Wasser, saure dagegen wurden leicht ausgezogen. Thionin erzeugte rothviolette Färbung, Safranin orangerothe. Reagirte die Waschflüssigkeit noch sauer, so erschien die Färbung mit Thionin oder Toluidinblau blauviolett oder dunkelblau, die mit Safranin intensiv roth.

Versuche mit frisch secernirtem Schleim konnte Referent wegen Mangel an geeignetem Material nicht anstellen. Durch Alkohol präcipitirter und seit 10 Jahren darin aufbewahrter Schleim aus der Unterkieferdrüse vom Hunde färbte sich noch recht energisch mit Theerfarben, Mucikarmin und Muchämateïn, löste sich aber weder in reinem, noch leicht alkalisirtem Wasser. An frischem ausgetrocknetem Schleim von Helix pomatia erhielt Referent in letzter Zeit ausgesprochene rothviolette Färbung mit Thionin. P. Mayer[64]) (pag. 324) konnte aus einer künstlich hergestellten Lösung von Submaxillarismucin vom Rinde mit seinen Schleimfarblösungen und Bismarckbraun den Schleim gefärbt präcipitiren, aber nicht mit Safranin, Thionin oder Toluidinblau. Bei Versuchen von Struiken[116]) (pag. 26) wurde »frisch secernirtes Mucin« mit Safranin auf $^1/_{20}$ seines Volums verdichtet, nach Zusatz von Toluidinblau war die Volumverringerung eine weniger bedeutende; Bismarckbraun, Methyl- und Methylengrün, Methyl- und Gentianaviolett gaben kein »Präcipitat«.

Orceïn. Schaffer[97]) (pag. 39) erhielt mit saurer Orceïnlösung Färbung verschiedener schleimhaltiger Drüsen und Becherzellen nach Alkoholhärtung. Zimmermann[129]) (pag. 593) drückt sich folgendermassen aus: »Bei Anwendung guter Orceïnlösung weisen (die Schleimzellen) die feinsten Funktionsunterschiede auf.« Bei anderen Autoren hat Referent analoge Wahrnehmungen nicht angetroffen.

Färbung des Schleimes mit Eisen. Schnitte von Zungen behandelte Podwisotzky[86]) mit Lösungen von Ferrosulfat und Gallussäure; nach Betupfung der vorher abgespülten Schnitte mit Terpentinöl zeigten die Schleimdrüsen schwarze, die Ebner'schen Drüsen graue Färbung. Mayer[55]) (pag. 382) lässt Schnitte, mit einer schwachen Lösung von Eisenacetat in dünner Schicht bedeckt, einige Tage in einer feuchten Kammer liegen. Der Schleim hat dann meist so viel Eisen aufgenommen, dass er gelb geworden ist, jedenfalls aber mit Gerbsäure schwarz oder mit Ferrocyankalium und Salzsäure blau wird. An gleicher Stelle theilt Mayer folgendes mit: List erhält eine scharfe Färbung des Schleimes, indem er die Schnitte mit einer Lösung von Eisenchlorid, die mit Salzsäure angesäuert ist, $^1/_2$ Stunde lang behandelt und dann mit Ferrocyankalium bläut.

Ueberosmiumsäure ist von den verschiedensten Forschern zur Fixirung von schleimhaltigen Objekten benutzt worden, aber keiner derselben erwähnt etwas von einer bemerkbaren Tinktion des Schleimes, bis auf Möbius[70]) und Bermann[3]) (pag. 37). Ueberrutheniumsäure wurde von Ranvier[39]) zur Färbung von Becherzellen in der Rachenschleimhaut von Fröschen in Anwendung gebracht. Das Objekt wurde zunächst durch 10—12 Stunden der Einwirkung von Osmiumsäuredämpfen ausgesetzt und darauf durch 3 Minuten den Dämpfen der Ueberrutheusäure; das »Mucigen« der Becherzellen färbt sich schwarz.

Körnung der Mastzellen, Knorpelgrundsubstanz und die pathologische amyloide Substanz zeigen in vielen Beziehungen ein gleiches Verhalten gegen die oben erwähnten metachromatisch färbenden Präparate, wie die Schleimzellen. Da aber diese Objekte wirklichen Schleim nicht enthalten, so können sie in dem vorliegenden Artikel auch nicht specieller besprochen werden.

Litteratur: [1]) G. Asp (Bidrag till spottkörlarnes mikroskopiska anatomi. Beiträge zur mikrosk. Anat. der Speicheldrüsen. Helsingfors 1873. Citirt nach dem Referat von Retzius in Schwalbe's Jahresber. f. 1873, pag. 195), [2]) D. Barfurth (Arch. mikr. Anat., Bd. 25, 1885), [3]) J. Bermann (Ueber die Zusammensetzung der Glandula submaxillaris aus verschiedenen Drüsenformen und deren funktionelle Strukturveränderungen, Würzburg 1878), [4]) G. Beyer (Die Glandula sublingualis, ihr histologischer Bau und ihre funktionellen Veränderungen. Diss., Breslau 1879), [5]) W. Biedermann (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 71, III, 1875, citirt nach Paneth [80]) pag. 157), [6]) G. Bizzozero (Arch. mikr. Anat., I. Mittheilung, Bd. 33, 1889, II. Mittheilung, Bd. 40, 1892, III. Mittheilung, Bd. 42, 1894), [7]) A. Böhm und M. v. Davidoff (Lehrbuch der Histologie des Menschen einschliesslich der mikroskopischen Technik, Wiesbaden 1895), [8]) A. Böhm und A. Oppel (Taschenbuch der mikroskopischen Technik. München 1890), [9]) L. J. Brühl (Beiträge zur Lehre von den Becherzellen, I. Historisch-kritische Darstellung der bisherigen Befunde aus der Zeit von 1837—1867, Diss., Berlin, 1898, citirt nach dem Referate von Oppel in den Ergebn. der Anat. u. Entwicklungsg. v. Merkel und Bonnet, Bd. 8, 1898, pag. 161), [10]) J. Carrière (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1882), [11]) M. Cloetta (Diss., Bonn 1893, auch Arch. mikr. Anat., Bd. 41), [12]) M. C. Deckhuizen (Med. Centr., 1866, Nr. 51 u. 52, citirt nach dem Referat von Zander in Schwalbe's Jahresb. für 1866, pag. 16), [13]) V. v. Ebner (Arch. mikr. Anat., Bd. 8), [14]) derselbe (Die acinösen Drüsen der Zunge und ihre Beziehungen zu den Geschmacksorganen, Graz 1873), [15]) derselbe (A. Kölliker's Handbuch der Gewebelehre des Menschen, 6. Aufl., Bd. 3, von V. v. Ebner, Leipzig 1899), [16]) P. Ehrlich (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1877), [17]) derselbe (Verh. physiol. Ges. Berlin, Arch. Physiol., 1879), [18]) Th. Eimer (Zur Geschichte der Becherzellen, insbesondere derjenigen der Schleimhaut des Darmkanales, Berlin 1868), [19]) M. Flesch (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885). [20]) W. Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1877), [21]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr. Bd. 2, 1885), [22]) E. Fries (Virch. Arch., Bd. 40, 1867, citirt nach Paneth [80]), pag. 150), [23]) S. Fuchs-Wolfring (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), [24]) G. Galeotti (Int. Mon. Anat. Physiol., Bd. 12, 1895), [25]) J. Garel (Recherches sur l'anatomie générale comparée et signification morphologique des glandes de la muqueuse intestinale et gastrique des animaux vertébrés, Paris 1879), [26]) G. Gianuzzi (Ber. K. sächs. Ges. Wiss., 27. Nov. 1865), [27]) H. Griesbach (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), derselbe (Zool. Anz. 1882, Nr. 117, citirt nach dem Referat von Ewald in Schwalbe's Jahresb. f. 1882, pag. 9), [28]) F. Grot (Ueber den Bau der Speicheldrüsen, referirt von Hoyer in Schwalbe's Jahresber. f. 1876), [29]) A. Grünhagen (Arch. mikr. Anat., Bd. 29, 1887), [30]) H. F. Harris (Journ. appl. Micr., Bd. 3, 1900, referirt von Schiefferdecker in Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. 8, 1901, pag. 36), [31]) R. Heidenhain (Cent. med. Wiss. 1866, Nr. 9), [31a]) derselbe (Sitz. schles. Ges. rat. Cult. vom 19. Januar, 27. April 1866, 1. Nov. 1867), [31b]) derselbe (Stud. physiol. Inst. Breslau, Heft 4, 1868), [32]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 6, 1870), [33]) derselbe (Physiologie der Absonderungsvorgänge, Handbuch der Physiologie, herausg. von L. Hermann, Bd. 5, I. Theil, 1880), [34]) derselbe (Pflüger's Arch., Bd. 43, Suppl., 1888), [35]) A. Heidenhain (Ueber die acinösen Drüsen der Schleimhäute, insbesondere der Nasenschleimhaut, Diss., Breslau 1870), [36]) M. Heidenhain (Sitz. Würzburger Phys. med. Ges. 1893, V. Sitzg. v. 25. Febr. 1893), [37]) derselbe (Anat. Anz., Bd. 18, 1900), [38]) T. Hermann (Anat. Anz., Bd. 3, 1888), [39]) H. Hoyer (Arch. mikr. Anat., Bd. 36, 1890), [40]) E. Klein (Journ. Micr. Sc., Bd. 18, 1878 u. Bd. 19, 1879), [41]) G. Klose (Beitrag zur Kenntniss der tubulösen Darmdrüsen, Diss., Breslau 1880), [42]) A. Kölliker (Würzburger Verhandl., Bd. 6, 1856, citirt nach List [59]), pag. 482), [43]) A. Kölliker (Handbuch der Gewebelehre des Menschen, 5 Aufl., 1867, pag. 53), [44]) R. Krause (Arch. mikr. Anat., Bd. 45, 1895), [45]) derselbe (ebenda, Bd. 49, 1897), [46]) A. Kuczynski (Mon. Anat. Phys., Bd. 7, 1890), [47]) N. Kultschitzky (Zeit. wiss. Zool., Bd. 41, 1884), [48]) derselbe (Medicinskoje obosrenje, Bd. 46, Moskau 1896, deutsch: im Arch. mikr. Anat., Bd. 49, 1897), [49]) E. Laguesse et E. Jouvenel (Bibl. anat., Bd. 7, 1899), [50]) G. Landel (Recherches sur les caractères micro-chimiques du mucus dans les tissus normaux de quelques vertébrés et dans les tissus pathologiques de l'homme, Thèse, Paris 1897), [51]) J. N. Langley (Proc. Physiol. Soc. 1898, Vol. II, Cambridge), [52]) W. N. Lankowsky (Die Schleim-(Becher-)Zelle, ihr Bau, ihre Lebensthätigkeit, ihre Abstammung und ihr Absterben, Diss., St. Petersburg 1891 [russisch], referirt von Lukjanow in Schwalbe's Jahresber. f. 1891, pag. 96), [53]) M. Lavdowsky (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1877), [54]) derselbe (Mikroskopische Anatomie des Menschen und der Thiere, Sammelwerk unter Redaktion von Lavdowsky und Owsjannikow, St. Petersburg 1887 [russisch], Verdauungsorgane bearbeitet von Lavdowsky, pag. 521—662), [55]) A. B. Lee und P. Mayer (Grundriss), [56]) F. Leydig (Zeit. wiss. Zool., Bd. 3, 1851, citirt nach Eimer [18]), pag. 11), [57]) J. H. List (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), derselbe (ebenda, pag. 222), [58]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 26, 1886), [59]) derselbe (ebenda. Bd. 27. 1886), [60]) derselbe (Biol. Centr., Bd. 6, 1886), [61]) derselbe (Biol. Centr., Bd. 5, 1886), [62]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), derselbe (ebenda, Bd. 5, 1888), [63]) A. Majewski (Int. Mon Anat. Phys, Bd. 11, 1894), [64]) P. Mayer (Mitth. zool. Stat. Neapel, Bd. 12, 1896), [65]) S. Mayer (Sitz. Ak. Wiss, Wien, Bd. 85. Abth. III, 1882), [66]) A. Maximow (Arch. mikr. Anat, Bd. 58, 1901), [67]) L. Merk (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 93, Abth. III,

1886, citirt nach dem Referat von ZANDER in SCHWALBE's Jahresb. für 1886, pag. 92), [68]) Fr. MERKEL (Die Speichelröhren, Rektoratsprogramm, Leipzig 1883), [69]) A. N. MISLAWSKY und A. E. SMIRNOW (Arch. Physiol. 1896, citirt nach dem Referat von STÖHR in SCHWALBE's Jahresber. f. 1896, pag. 445), [70]) K. MÖBIUS (Arch. mikr. Anat., Bd. 25, 1885), [71]) E. MÜLLER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 64, 1898), [72]) L. NEUMAYER (Sitz. Ges. Morph. Phys. München, 1898, citirt nach dem Referat von W. KRAUSE in SCHWALBE's Jahresber. f. 1898, pag. 520), [73]) PH. NICOGLU (Zeit. wiss. Zool., Bd. 56, 1893), [74]) N. NICOLAS (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 2, 1885), [75]) C. NIEMAND (Deutsche Mon. Zahnheilk., Jahrg. XV, 1897), [76]) O. NORDMANN (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 2, 1885), [77]) I. OGNEFF (Biol. Centr. 1892), [78]) H. OEFFINGER (Arch. Anat. 1867), [79]) A. OPPEL (Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbelthiere, III. Theil, Mundhöhle, Bauchspeicheldrüse und Leber, Jena 1900), [80]) J. PANETH (Arch. mikr. Anat., Bd 31, 1888), [81]) C. PARTSCH (ebenda, Bd. 14, 1877), [82]) E. PAULSEN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), [83]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 26, 1886), [84]) derselbe (ebenda, Bd. 28, 1886), [85]) derselbe (ebenda, Bd. 32, 1888), [86]) V. PODWISOTZKY (Anatomische Untersuchungen über die Zungendrüsen des Menschen und der Säugethiere, Diss., Dorpat 1878), [87]) E. G. RACOWITZA (Arch. Zool. expér. gén., Bd. 2, 1894, citirt nach dem Referat von SCHIEMENZ in Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. 12, 1895, pag. 224), [88]) L. RANVIER (Traité technique d'Histologie, Paris 1875), [89]) derselbe (Compt. rend., Bd. 105, 1887, Nr. 3, pag. 145, citirt nach dem Referat von LIST in Zeitschr. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888, pag. 233), [90]) R. W. RAUDNITZ (Arch. mikr. Anat., Bd. 22, 1883), [91]) B. RAWITZ (Leitfaden für histologische Untersuchungen, Jena 1889), [92]) derselbe (Grundriss der Histologie, Berlin 1894, [93]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 49, 1892), [94]) C. SACERDOTTI (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 11, 1894), [95]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1896), [96]) W. I. SARUBIN (Zur Lehre von den Schleim-(Becher-)Zellen, Charkow 1897 [russisch]), [97]) J. SCHAFFER (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 100, Abth. III, 1891 und Bd. 106, Abth. III, 1897), [98]) P. SCHIEFFERDECKER (Arch. mikr. Anat., Bd. 15, 1887), [99]) derselbe (ebenda, Bd. 23, 1884), [100]) derselbe (Zeitschr. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), [101]) derselbe (ebenda, pag. 223), [102]) derselbe (ebenda, Bd. 3, 1886), [103]) A. SCHNITZLER (Beiträge zur Kenntniss der Trachealschleimhaut, mit besonderer Berücksichtigung der Basalmembran, Diss., München 1893, citirt nach v. EBNER [15]), [104]) F. E. SCHULTZE (Centr. med. Wiss. 1866), [105]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 3, 1867), [106]) SEIDNMANN (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 10, 1893), [107]) R. v. SEILER (Festschr. f. R. LEUCKART), [108]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 38, 1891), [109]) B. SOLGER (Anat. Anz., Bd. 9, 1894), [110]) derselbe (Festschr. f. GEGENBAUER 1896, citirt nach P. MAYER [55]), pag. 415), [111]) J. STEINHAUS (Arch. Phys., 1888), [112]) PH. STÖHR (Sitz. med. phys. Ges. Würzburg 1884), [113]) derselbe (Festschr. f. A. v. KÖLLIKER), [114]) derselbe (Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen, 7. Aufl., Jena 1896), [115]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1897), [116]) H. J L. STRUIKEN (Beiträge zur Histologie und Histochemie des Rektumepithels und der Schleimzellen, Diss., Freiburg 1893), [117]) M. SUSSDORF (Deutsche Zeitschr. Thiermed., Bd. 14, 1888), [118]) D. TERASZKIEWICZ (Zur Histologie der Schleim-, serösen, Speicheldrüsen und des Pankreas, Arbeiten aus d. Laborat. d. med. Fakult. zu Warschau 1875 [russisch], referirt von HOYER in SCHWALBE's Jahresb. f. 1875, pag. 252), [119]) A. THÉOHARI (Arch. d'anat. micr. T. 3, 1899, citirt nach d. Referat v. OPPEL in: Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsg. v. MERKEL u. BONNET, Bd. 9, 1899, pag. 125), [120]) N. TRINKLER (Arch. mikr. Anat., Bd. 24, 1885), [121]) P. G. UNNA (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1892), [122]) derselbe (Mon. prakt. Dermatol., Bd. 18, 1894), [123]) derselbe (ebenda, Bd. 19, 1894), [124]) derselbe (ebenda, Bd. 20, 1895), [125]) H. WATNEY (Proc. Roy. Soc., Bd. 22, 1874, citirt nach HEIDENHAIN [33]), pag. 64), [126]) derselbe (Philos. Trans. 166, T. 2, 1876, citirt nach PANETH [80], pag. 114, Anm. 2), [127]) E. WESTPHAL (Ueber Mastzellen, Diss., Berlin 1880), [128]) TH. ZERNER (Wiener med. Jahrb. 1866, citirt nach d. Referat von SOLGER in SCHWALBE's Jahresb. f. 1866, pag. 347), [129]) K. W. ZIMMERMANN (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898).

Nachtrag: [130]) P. HARI (Arch. mikr. Anat., Bd. 58, 1901. pag. 678), [131]) derselbe (ebenda, pag. 685), [132]) W. OKADA (Arch., Laryngol., Bd. 7, 1898, citirt nach HARI [130]), pag. 679), [133]) A. SCHMIDT (VIRCH. Arch., Bd. 143, 1896, pag. 484, citirt nach HARI [130]), [134]) FR. WARBURG (Beiträge zur Kenntniss der Schleimhaut des menschlichen Magens, Diss., Bonn 1894, citirt nach HARI [130]).

H. Hoyer, Warschau.

Schleimige Entartung. Die schleimige Entartung ist eine sehr häufige krankhafte Erscheinung, die sowohl an den Bindesubstanzen, wie dem Epithel sich abspielen kann. In der Mehrzahl der Fälle handelt es sich dabei nur um die Zunahme normaler Vorgänge, d. h. der Schleim tritt nur in solchen Geweben auf, die auch schon normaler Weise Schleim enthalten: ausnahmsweise kommt die Entartung auch an Orten vor, in denen für gewöhnlich kein Schleim beobachtet wird. An frischen Zupf- und Schnittpräparaten fällt der Schleim durch sein durchscheinendes Aussehen und seine meist fädige Beschaffenheit auf; zur näheren Differenzirung ist Zusatz von Essigsäure nöthig, wodurch er gefällt wird, während er sich in verdünnten Alkalien auflöst. Bei Alkoholzusatz tritt körnige Gerinnung auf, durch MÜLLER'sche Flüssigkeit quillt er auf.

Der Schleim lässt sich durch zahlreiche färberische Methoden gut sichtbar machen, da er eine grosse Neigung zur Metachromasie besitzt. Schon bei Färbung mit Alaunhämatoxylin (besser das Böhmer'sche wie das Delafield'sche) erscheint der Schleim viel intensiver (violett) gefärbt als die Kerne, ebenso bei Alaunkarminfärbung. Durch die Weigert'sche Fibrinfärbung wird er ebenso gefärbt wie das Fibrin, Methylenblau färbt ihn dunkelblau, Safranin orangeroth; bei Anwendung der Gentiana- und Methylviolettamyloidreaktion färbt sich Schleim ähnlich wie das Amyloid, nur nicht ganz so leuchtend roth.

Von den besonderen zur Färbung des Schleims angegebenen Methoden ist in erster Linie die von Hoyer empfohlene Färbung mit Thionin (oder Toluidinblau) zu erwähnen, weil hierbei die geringsten Schleimmengen sichtbar gemacht werden und die Färbung fast den Werth einer mikrochemischen Reaktion besitzt. Sie wird am besten an in Sublimat gehärtetem und in Paraffin eingebettetem Material ausgeführt. Das Verfahren gestaltet sich am besten folgendermassen:

1. Fixirung in konc. wässeriger Sublimatlösung (ohne Zusatz von Kochsalzlösung oder Essigsäure) kurze Zeit (kleine Stücke nur 3—5 Minuten).

2. Entsublimiren in Jodalkohol und Nachhärten in absol. Alkohol möglichst rasch.

3. Einbetten in Paraffin, Schneiden.

4. Eintauchen der entparaffinirten Schnitte in konc. wässerige Sublimatlösung 1/2 Minute (bei Schnitten von nicht in Sublimat gehärtetem Material mindestens 1 Minute). Darauf Abspülen in Alkohol.

5. Färben in verdünnter Thioninlösung (2 Tropfen einer heissgesättigten wässerigen Lösung auf 5 Ccm. Wasser).

6. Abspülen in 90%igem Alkohol und Entwässern in absolutem Alkohol.

7. Aufhellen in Xylol oder Minot'schem Gemisch (1 Th. Nelkenöl auf 5 Th. Thymianöl). Einbetten in Kanadabalsam.

Das Grundgewebe erscheint blau, der Schleim und die schleimenthaltenden Gewebe rothviolett. Die gleiche Metachromasie zeigen nur noch die Mastzellenkörner und manche elastische Fasern (besonders der Blutgefässwandungen). Die rothe Farbe tritt am besten hervor bei Untersuchung in Wasser, durch Alkohol und Xylol wird der intensiv rothe Farbenton mehr violett und noch stärker ändert sich der Farbenton in Xylolkanadabalsam, so dass wenigstens der Einschluss in dickem Damarlack vorzuziehen ist. Während somit die Thioninfärbung bei Betrachtung der Schnitte in Wasser alle übrigen Methoden bei weitem übertrifft, steht sie bezüglich der Dauerpräparate wieder hinter vielen anderen zurück. So kann z. B. die einfache Färbung mit Böhmer'schem Hämatoxylin viel stärker in die Augen springende Bilder geben. Sehr empfehlenswerth sind auch die Methoden von P. Mayer, von denen namentlich die Mucikarminfärbung dadurch, dass sie nur Schleim färbt, bedeutungsvoll ist.

Färbung mit Mucikarmin.

(Zusammensetzung der Farblösung siehe unter Karmin.)

Färben in der verdünnten Lösung 5—10 Minuten, Abspülen mit Wasser, Entwässern, Aufhellen, Einschliessen in Balsam.

Nur der Schleim erscheint roth, sind auch die Kerne gefärbt, so enthält die Farbflüssigkeit freie Säure, die man durch tropfweisen Zusatz von 1%igem doppelkohlensauren Natron neutralisiren muss. Zur Kontrastfärbung ist Vorfärbung mit Hämalaun zu empfehlen.

Färbung mit Muchämatein.

(Zusammensetzung der Farblösung siehe unter Hämateïn.)

Färbung 5—10 Minuten, Auswaschen in Wasser etc.
Die Kerne braunblau, Schleim röthlich-violett.

Litteratur: Hoyer (Arch. mikr. Anat., Bd. 36), P. Mayer (Mit. zool. Stat. Neapel. Bd. 12), Schmorl (Techn., 2. Aufl. 1901). *Lubarsch*, Posen.

Schlemmkreide, gemahlene Kreide, aus der durch Schlemmen alle gröberen Partikelchen entfernt sind, ist ein vorzügliches Mittel, um Objektträger, Glasplatten und -scheiben mechanisch zu säubern (s. Deckgläser).

Schmirgel, Smirgel, Lapis smiridis, besteht aus krystallisirter Thonerde und dient wegen seiner Härte zum Schleifen von Edelsteinen, Metallen, Glas etc. Die beste Sorte ist der Naxossmirgel. Die Handelswaare ist meist ein Gemenge von Granaten, Quarz, Eisenglanz, Eisenschlacke etc. Er kommt in Form von mehr oder weniger feinem Pulver oder auf Papier oder Leinwand (Schmirgelpapier) aufgetragen in den Handel.

In der Mikrotechnik dient er zum Schleifen von Hartgebilden (siehe Knochen und Zähne).

Schnecke siehe Gehörorgan.

Schnittpräparate pflanzlicher sehr harter oder verkohlter Objekte. 1. Lassen sich auch selbst harte Samenschalen mit dem Rasirmesser noch schneiden, wenn man sich auf sehr kleine und dünne Stücke beschränkt, wird man unter Umständen doch zum Schleifen seine Zuflucht nehmen müssen. Es geschieht dies am besten nach der Methode von Höhnel und Ehrenbaum, auch ist das Durchtränken mit Kanadabalsam oft zweckmässig (s. Knochen und Zähne, pag. 658).

2. Verkohlte Pflanzenreste, zumal prähistorische Funde, sind im allgemeinen so bröckelig, dass dem Schneiden ein Einbetten in einer bindenden Substanz vorhergehen muss. Samen werden hierzu mit Kanadabalsam durchtränkt. Hölzer werden vorsichtig auf dem Platinblech verascht, die noch zusammenhängende Asche in heisses Paraffin übertragen und erkalten gelassen. Die Schnitte durch das Paraffin werden bis zum Schmelzen erwärmt, dann durch Xylol das Paraffin entfernt und in Kanadabalsam eingeschlossen. Besonders auf Querschnitten zeigt die Asche aufs beste die Struktur des Holzes (Wittmack und Buchwald).

Litteratur: Wittmack und Buchwald (Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. 20, 1902). *Magnus*, Berlin.

Schnittserienmethoden bei Celloidineinbettung und Aufkleben von Celloidinschnitten. Während man früher bei Herstellung von lückenlosen Serien aus Celloidinschnitten genöthigt war, jeden Schnitt zu isoliren und getrennt zu behandeln, hat die Weigert'sche Methode (22) uns gelehrt, die vielen Manipulationen, die ein vom Mikrotommesser kommender Schnitt bis zu seinem Einschliessen durchzumachen hat, gleichzeitig an einer beliebig grossen Anzahl von Schnitten vorzunehmen. Da die Weigert'sche Methode als älteste den Ausgangspunkt für die anderen Verfahren darstellt und auch heute noch sehr viel angewendet wird, so möge sie ganz genau hier geschildert werden. Das Princip der Methode ist, die geordneten Schnitte zwischen zwei Kollodiumhäutchen einzuschliessen und das erstarrte doppelte Kollodiumblatt wie einen grossen Schnitt zu behandeln.

1. Präparation der Glasplatten.

Die in der Grösse je nach Bedürfniss gewählten Glasplatten werden sorgfältig gereinigt und dann mit einer möglichst dünnen Schicht von Kollodium bedeckt. Zu diesem Zwecke hält man zwischen Daumen und

Zeigefinger der linken Hand die Glasplatte an einer Ecke fest, giesst das officinelle Kollodium in die Mitte der Platte und lässt es durch leichtes Neigen über die ganze Platte sich ausbreiten; der Ueberschuss wird in die das Kollodium enthaltende Flasche zurückgegossen. Die auf eine Kante gestellte Platte ist bald genügend trocken zum Gebrauch, so dass man dieselbe unmittelbar, bevor man die Schnittserie herstellt, giessen kann.

2. Anfertigung der Schnittserien.

Man schneidet sich aus Klosetpapier Streifen etwa von doppelter Breite des zu schneidenden Objekts und hält dieselben auf einem mit mehreren Lagen von Fliesspapier bedeckten gewöhnlichen flachen Porzellanteller während der Herstellung der Schnitte dadurch feucht, dass man die Fliesspapierlage mit 70%igem Alkohol gut anfeuchtet und etwa überschüssigen Alkohol abgiesst. Jeder einzelne Schnitt wird, nachdem er auf dem Messer gut ausgebreitet ist, direkt mit dem Papierstreifen vom Messer abgezogen, und zwar in der Weise, dass man mit dem von beiden Händen leicht gespannt gehaltenen Streifen den Schnitt bedeckt und nun über die Schneide des Messers hinaus, also in querer Richtung zu demselben den Streifen abzieht. Es haftet der Schnitt, gut ausgebreitet, mit Sicherheit dem Streifen an, wenn derselbe nicht mehr auf dem Messer schwimmt. Ein Alkoholüberschuss muss also vorher vom Messer entfernt werden.

So zieht man einen Schnitt nach dem andern unmittelbar nach seiner Herstellung auf den Streifen ab, so zwar, dass der erste an dem von der linken Hand gehaltenen Ende zu liegen kommt, und der nächstfolgende sich ihm rechts anreiht. Verfährt man in dieser Weise, so findet die mehrmalige Berührung eines bereits aufgezogenen Schnittes mit dem Messer nicht statt, und eine nachherige Verschiebung der Schnitte wird unmöglich. Die mit Schnitten bedeckten Papierstreifen bleiben bis zur Weiterbehandlung auf dem Teller liegen, selbstverständlich so, dass die Schnitte nach oben sehen. Eine Vertrocknung findet, so lange das Fliesspapier auf dem Teller gut angefeuchtet erhalten wird, nicht statt.

3. Ablegen der Schnitte auf die kollodiumbekleideten Glasplatten.

Durch sanftes Andrücken der Klosetpapierstreifen auf die vorher präparirte Kollodiumschicht der Glasplatte haften die Schnitte der Kollodiumschicht fest an, wenn man wie bei Abziehbildern den Papierstreifen von einem freien Ende aus vorsichtig abhebt. Mehr wie zwei, höchstens drei Reihen von Schnitten untereinander stelle man nicht her, da sonst die zuerst abgezogenen Schnitte zu leicht austrocknen. Ein etwaiger Ueberschuss von Alkohol bei dem Uebertragen der Schnitte auf die Platte muss durch Fliesspapier entfernt werden.

4. Anfertigung der zweiten Kollodiumschicht und weitere Behandlung der Schnittserien.

Das Aufgiessen der neuen Schicht* geschieht in gleicher Weise wie bei der Präparation der Glasplatten, muss aber unmittelbar nach dem Trocknen der Schnitte vorgenommen werden. Dann wird die Platte wieder auf die Kante gestellt und leicht getrocknet. Jetzt kann man auch mit einem in Methylenblau getauchten Pinsel die Serien markiren.

Die eben trocken gewordene Platte wird in 80%igen Alkohol gestellt, wo die doppelte, die Schnitte einschliessende Kollodiumschicht ganz fest

* Staderini[17]) verwendet statt Kollodium hier eine Mischung von 5 Theilen absol. Alkohols, 5 Theilen Aether und 3 Theilen Kollodium.

wird; in wässerigen Lösungen löst sich dieselbe und kann bei ihrer Festigkeit wie ein einziger grosser Schnitt behandelt werden. Sie lässt sich unter Wasser bequem mit einer Schere zerschneiden oder auch in der Weise, dass man die Serie auf Klosetpapier im Wasser ausbreitet und mit demselben schneidet. Das Papierstückchen, das der Schicht anhaftet, löst sich bei der Weiterbehandlung von selbst. Die Serien kommen dann in 96%igen Alkohol. Zur gänzlichen Entwässerung schlägt an dieser Stelle Weigert noch Kreosot vor, weist aber schon auf die ihn damals beschäftigenden Versuche eines besseren Aufhellungsmittels hin, das er dann später (cf. »Celloidin«) in dem Karbolxylol (1 : 3) gefunden hat.

Wintersteiner[23]), welcher glaubt, dass die Eigenfarbe des Klosetpapiers ungefärbte, kleinere Schnitte und eventuelle Faltenbildung derselben nur schwer erkennen lässt, schlägt folgende Modifikation der Weigert'schen Methode vor: Die Schnitte verbleiben auf dem Messer, so lange Platz ist, werden dort in der richtigen Reihenfolge geordnet und dann mit einem Pinsel direkt vom Messer auf die mit 70%igem Alkohol angefeuchtete, präparirte Kollodiumglasplatte übertragen. An dieser Stelle erwähnt auch Wintersteiner den kleinen, wohl von jedem, der Schnittserien hergestellt hat, erfundenen Kunstgriff, den Celloidinblock, so lange man mit anderen Manipulationen beschäftigt ist, vor Eintrocknung durch in Alkohol angefeuchtete Lagen von Fliesspapierstückchen zu schützen. Zur Vermeidung des gleichen Uebelstandes hat Alexander[1]) ein Glaskästchen konstruirt, welches über den eingespannten Celloidinblock gedeckt werden kann. Diese Vorrichtung erlaubt eine beliebig ofte und lange Unterbrechung des Schneidens von Schnittserien.

Einen ebenso brauchbaren Apparat beschreibt später noch Streiff[19]) als »Stabilitblock mit Alkoholkammer«.

Ein recht zweckmässiges und vielfach von mir erprobtes Verfahren, das den Vorzug hat, generell zu sein, also für Paraffin- und Celloidinpräparate in gleicher Weise anwendbar ist, hat Obregia[14]) angegeben. Da uns die Methode hier nur so weit interessirt, als sie für Celloidinschnitte gilt, will ich mich auch auf die Schilderung des Verfahrens für Celloidinschnitte beschränken:

Man hat zwei Lösungen nothwendig: Lösung *A* (Zuckerlösung) erhält man folgendermassen: Gepulverter Kandiszucker wird in kochendes destillirtes Wasser eingerührt, bis eine syrupdicke Lösung entsteht (Zuckerstammlösung). In gleicher Weise stellt man sich eine syrupöse Lösung von reinem Dextrin in kochendem destillirten Wasser her (Dextrinstammlösung).

Lösung *A* setzt sich dann zusammen aus 30 Ccm. der Zuckerstammlösung, 10 Ccm. der Dextrinstammlösung, 20 Ccm. 95%igen Alkohols.

Lösung *B* hat folgende Zusammensetzung: Photoxylin 6 Grm., Alkohol absol., Aether puriss. aa. 100,0 Ccm.

Statt des Photoxylins lässt sich lufttrocken gemachtes Celloidin oder besser Celloidinwolle verwenden.

Man präparirt sich nun die Glasplatten, resp. Objektträger, welche die Schnitte aufnehmen sollen, folgendermassen: Nach ihrer Reinigung werden sie mit Lösung *A* übergossen, so dass eine ganz gleichmässige Schicht der Flüssigkeit sich bildet. Den Ueberschuss entfernt man dadurch, dass man die Glasplatte schräg hält und abtropfen lässt. Die Platten werden an einem warmen, trockenen Orte (Brutschrank) lufttrocken gemacht und sind dann mehrere Tage noch zur Aufnahme der Schnitte geeignet. Wie bei der Weigert'schen Methode werden die Schnitte auf mit 70%igem Alkohol angefeuchtetes Klosetpapier gebracht (Obregia empfiehlt hier satinirtes Seidenpapier, welches auf der Zuckerplatte keine Fasern zurücklässt), dort geordnet und geglättet und dann, nachdem man den überschüssigen Alkohol durch Fliesspapier vom Klosetpapierstreifen abgesaugt hat, den Zuckerplatten sanft angedrückt. Die Schnitte haften nach Abziehen des Streifens fest an der Zuckerschicht. Die durch das Anfeuchten eintretenden kleinen Unebenheiten in der Zuckerschicht verschwinden bereits nach einer Minute.

Nun giesst man unter Schrägstellung der Platte die Lösung *B* über die Platte, lässt den Ueberschuss rasch ablaufen und stellt die Platte wieder

horizontal, damit die Photoxylinschicht möglichst gleich dick erstarrt. So lange, bis die Trübung der Photoxylinschicht verschwindet, lässt man die Platten an der Luft liegen. Taucht man jetzt die Platte in Wasser, so wird die Zuckerschicht gelöst und das zarte Photoxylinhäutchen löst sich mit den Schnitten von seiner Unterlage ab.

Das Ganze kann dann wie bei dem WEIGERT'schen Verfahren als ein grosser Schnitt weiter behandelt werden.

Die Vortheile der Methode liegen auf der Hand. Die Schnitte sind nicht mehr zwischen zwei Kollodiumhäutchen eingeschlossen, sondern werden nur durch eine Schicht aneinander fixirt. Die Präparate sind also dünner und setzen dem Eindringen der Farbstoffe weniger Widerstand entgegen, ohne dass die Methode an Sicherheit der WEIGERT'schen nachsteht.

Statt der Zuckerlösung verwendet DIMMER[9]) eine Gelatinelösung, welche durch Auflösung von 16 Grm. Gelatine in 300 Grm. warmen Wassers hergestellt wird. Mit dieser Lösung werden vorher leicht erwärmte Glasplatten beschickt, zwei Tage lang bei Zimmertemperatur getrocknet und während dieser Zeit vor Staub geschützt. Die Schnitte werden in der gewöhnlichen Weise auf die so präparirten Platten gebracht und durch eine Photoxylinschicht, wie bei dem OBREGIA'schen Verfahren untereinander fixirt. Zur Ablösung des Photoxylinhäutchens von der Glasplatte muss jedoch die letztere in Wasser von 50—55° C gebracht werden. Um das Eindringen des warmen Wassers zwischen Photoxylin und Glasplatte zu erleichtern, empfiehlt es sich, am Rande der Platte das Häutchen einzuritzen; die Ablösung geht, wenn man das warme Wasser wechselt, spätestens in einem Tage vor sich. Das Verfahren lässt sich aber nur bei bereits vorher gefärbten Präparaten oder solchen, bei welchen die WEIGERT'sche Markscheidenfärbung vorgenommen werden soll, anwenden, da bei anderen Färbemethoden die Deutlichkeit des Präparates unter den sich mitfärbenden, der Photoxylinschicht noch anhaftenden Gelatineresten schwer leidet Das Verlangen, nur durch eine Kollodiumschicht die Befestigung der Schnitte untereinander zu erreichen, kommt auch in dem nicht so sicheren Verfahren von SCHIEFFERDECKER[16]) zum Ausdruck. Derselbe überzieht die Glasplatte oder den Objektträger mit einer dünnen Kollodiumlösung*, lässt letztere trocknen und ordnet die aus 96%igem Alkohol kommenden Schnitte auf demselben. Wenn der Alkohol etwas verdunstet ist, die Schnitte aber noch feucht sind, wird das Ganze Aetherdämpfen ausgesetzt, am besten in einem Cylinder, der nach SCHIEFFERDECKER's Beschreibung wohl ein Exsiccator ist. Der Boden desselben enthält Aether, auf das Sieb wird der mit Schnitten bedeckte, kollodionirte Objektträger gelegt. Sobald sich Aethertropfen auf dem Objektträger niederschlagen, wird derselbe in 90%igen Alkohol gebracht und kann dann ohne Gefahr des Ablösens eines Schnittes weiterbehandelt werden.

Hierher gehört auch eine der von APÁTHY[4]) angegebenen Methoden, welche die Herstellung aus Serienschnitten auf dem Messer erlaubt, und bei der mit Umgehung von Platten die Schnitte durch aufgepinseltes Celloidin aneinander geklebt werden. Jeder Schnitt wird, einer nach dem anderen, in Reihen auf eine trockene Stelle des gut mit Vaseline eingefetteten Messers geschoben, die Serie mit Fliesspapier erst vom Rande her, dann durch Auflegen desselben getrocknet. Ein Kleben der Schnitte am Papier ist dabei nicht zu fürchten. Hierauf wird die Serie mit dünnster Celloidinlösung bestrichen und nachdem man 5 Minuten lang den Aether aus dem Celloidin hat verdunsten lassen, mit 70%igem Alkohol angefeuchtet. Die ganze Serie wird dann wie ein Schnitt vom Messer abgehoben und kann in 70%igem Alkohol beliebig lange aufbewahrt werden.

Andere sicherlich noch weniger zuverlässige Methoden leisten auch auf die eine die Schnitte verbindende Celloidin-, beziehungsweise Kollodiumschicht Verzicht und suchen die Befestigung der Schnitte durch das in jedem Schnitt befindliche Celloidin zu erreichen. Hierher sind die Verfahren von SUMMERS[20]), APATHY[3]) und AUBURTIN[6]) zu rechnen.

Ersterer reiht die Schnitte aus 95%igem Alkohol auf einen Objektträger auf, trocknet den überschüssigen Alkohol ab und lässt die Aetherdämpfe einer mit Aether gefüllten Flasche auf das Ganze einwirken; nach Erweichung des Celloidins kommt der Objektträger in

---

* GAGE[10]) versieht, bevor er die Glasplatten mit Kollodium überzieht, letztere mit einer Schicht einer ½%igen Eiweisslösung, durch welche das Haften der Kollodiummembran sicherer sein soll.

80%igen Alkohol, wo das entstandene Celloidinhäutchen wieder erstarrt. Verwendet er, wie dies auch SCHIFFERDECKER thut, Objektträger, die vorher mit einer Kollodiumschicht überzogen sind, so giesst er nach Entfernung des Alkohols durch Abtrocknen direkt eine Alkohol-Aetherlösung zu gleichen Theilen auf das Objektglas und lässt dieselbe verdunsten.

APÁTHY[3]) setzt ebenfalls die dem trockenen Objektträger fest anliegenden Schnittserien für einige Minuten in einer verschlossenen Flasche Alkohol-Aetherdämpfen aus. Bei Benützung wässeriger Farbstofflösungen muss man. um nicht nur ein Festkleben der Schnitte am Objektglas, sondern auch eine die Schnitte unter einander verbindende Celloidinmembran zu erzielen, das Celloidin der Schnitte sich dachziegelartig decken lassen. Löst sich dann das Celloidinhäutchen am Objektträger in wässerigen Lösungen, so kann es wie ein grosser Schnitt behandelt werden.

AUBURTIN[6]) entfernt vor dem Schneiden vom Objekt möglichst den umhüllenden Celloidinmantel, bringt die Schnitte der Reihe nach auf einen trockenen, gereinigten Objektträger und entwässert dieselben zunächst durch Auflegen von Fliesspapier, dann durch langsames Auftropfen von absolutem Alkohol. Letzteres muss sehr vorsichtig von einer mit Schnitten nicht bedeckten Stelle des Objektträgers her geschehen, da sonst die Schnitte durcheinander schwimmen. Nach Absaugen des Alkohols tropft man in gleicher Weise eine Alkohol-Aetherlösung zu gleichen Theilen auf, bis der ganze Objektträger mit ihr bedeckt ist. Nach Verdunstung der Alkohol-Aetherlösung hat sich eine dem Objektglas fest anhaftende Celloidinmembran gebildet.

Eine recht einfache und zweckmässige Methode zur Herstellung von Schnittserien, die aber nur dann anwendbar ist, wenn an den Schnitten nach dem Schneiden keine weiteren Manipulationen vorgenommen zu werden brauchen, wenn also das Präparat bereits im Stück vorgefärbt ist, hat dann noch APÁTHY[2]) angegeben. Die Schnitte werden unter Benetzung von 95%igem Alkohol hergestellt und von da direkt in Bergamottöl übertragen. Dieses letztere muss von grüner Farbe sein, mit 90%igem Alkohol ohne Trübung sich mischen und darf nicht nach Terpentin riechen. Haben sich die Schnitte im Oel ausgebreitet, so werden sie auf einen in Oel eintauchenden Pauspapierstreifen gezogen und dort geordnet. Nach Trocknen des Streifens an seiner Unterfläche durch Löschpapier wird der Streifen einem gut getrockneten Objektträger mit Löschpapier sanft angedrückt. Zieht man den Streifen vom Objektträger langsam ab, so haften die Schnitte am Objektträger fest (ein etwa hängengebliebener wird nochmals mit Bergamottöl angefeuchtet und von neuem dem Objektträger angepresst). Ein weiteres Trocknen der Schnitte erreicht man durch Auflegen von glattem Löschpapier und Darüberhinstreifen über dasselbe. Die Schnitte können jetzt in Balsam gelegt werden ohne Gefahr einer Verschiebung.

BUMPUS[7]) betont, mit seinem Verfahren (cf. »Celloidin«) auch leicht Serienschnitte gewinnen zu können. Die unter Thymianölanfeuchtung erhaltenen Schnitte werden einfach auf einem Objektträger geordnet, den Ueberschuss des Oels lässt man verdunsten; in ungefähr einer Viertelstunde kann man dann die Schnitte, die in diesem Intermedium nicht vertrocknen, in Balsam einschliessen.

Endlich haben neuerdings die Methoden von JORDAN[11]) und ARGUTINSKY[5]) gezeigt, dass man Celloidinschnitte ebenso wie Paraffinschnitte mit Eiweiss aufkleben kann.

Als erster hat sich wohl RUFFINI[15]) zum Aufkleben der Celloidinschnitte und Herstellung von Serien der MAYER'schen Eiweissglycerinlösung bedient. Die Schnitte werden nach seiner Angabe auf einem mit Alkohol befeuchteten Papierstreifen geordnet, der Alkohol durch Auflegen des Streifens auf den Handrücken (!) theilweise zum Verdunsten gebracht, dann das Papier dem Objektträger aufgedrückt. Um die Verdunstung des Alkohols zu beschleunigen, hält RUFFINI den Objektträger mit der den Schnitten abgewendeten Seite gegen die Stirne (!). Nach Abziehen des Papierstreifens haften die Schnitte fest und können in Wasser oder Alkohol gebracht werden.

JORDAN[11]) bringt die Schnitte aus 80—90%igem Alkohol auf den mit Eiweissglycerin bestrichenen Objektträger, drückt dieselben mit Seidenpapier dem Glase fest an, legt einen zweiten Objektträger auf das Papier und erwärmt das Ganze vorsichtig über einer Flamme, bis das Eiweiss zur Koagulation gebracht ist. Erst dann nimmt man unter 96%igem Alkohol den zweiten Objektträger und das Seidenpapier weg; die Schnitte kleben dem

Glase fest an und können ohne Gefahr der Ablösung ihres Celloidins beraubt werden.

ARGUTINSKY[5]) bringt auf den vorher mit Alkohol gereinigten und erhitzten Objektträger Glycerineiweiss in dünner Schicht, lässt letzteres durch Erwärmen (am besten in einem auf 100° eingestellten Wärmeschrank) gerinnen, überträgt dann die unter 70%igem Alkohol hergestellten Schnitte auf das Glas, breitet sie aus, ordnet sie und saugt dann den die Schnitte bedeckenden Alkohol zuerst vom Rande ab, damit die Schnitte nicht nachträglich noch aus der Reihe kommen.

Schliesslich werden die Schnitte durch Auflegen einer 8—12fachen Lage Filtrirpapier und wiederholtes Streichen über dasselbe dem Glase fest angedrückt. Nach Abnahme der Filtrirpapierlage kommt der Objektträger sofort in destillirtes Wasser und kann von da aus in alle das Celloidin und Eiweiss nicht auflösende Flüssigkeiten gebracht werden, ohne dass sich ein Schnitt vom Objektträger abhebt. Geschieht die Weiterbehandlung der Serien erst später, so empfiehlt es sich, zur Verhinderung der Fäulniss die Schnitte in 70%igem Alkohol aufzubewahren.

JORDAN[12]), der sich von der Zuverlässigkeit der ARGUTINSKY'schen Methode nicht überzeugen konnte, giebt für das Aufkleben der Schnitte noch ein weiteres Verfahren an, das sich ihm immer gut bewährt hat.

Zur Einbettung der Objekte gebraucht er (cf. auch »Celloidin«) eine Celloidincedernholzölmischung 4 : 1, gehärtet werden dieselben in einer Chloroformcedernholzöllösung (5 : 1), nachdem sie vorher bis zur Bildung eines Häutchens Chloroformdämpfen ausgesetzt waren. Das Präparat wird unter Befeuchten mit der Erhärtungsflüssigkeit geschnitten. Die Schnitte werden hierauf auf den mit Eiweissglycerin bestrichenen und mit der Chloroformcedernholzöllösung angefeuchteten Objektträger gebracht, glätten sich dort sehr gut und haften besonders in der Wärme nach Verdunsten des Chloroforms nach wenigen Minuten Trocknens so fest, dass man das Celloidin unbedenklich aus den Schnitten entfernen kann.

Handelt es sich bei der Herstellung von Serien um grosse Objekte, von welchen nur wenige Schnitte auf einer Glasplatte Platz fänden, oder ist es erwünscht, aufeinanderfolgende Schnitte nach verschiedenen Färbemethoden zu behandeln, so wird man sich solcher Verfahren bedienen, bei welchen nur eine geordnete Reihenfolge der Schnitte garantirt wird.

Zu diesem Zwecke bedient sich WINTERSTEINER[23]) eines rechteckigen Gestells, dessen Boden aus Glas besteht und das zur Aufnahme von 30 Glasdosen mit Falzdeckel dient. Deckel und Dose ist mit fortlaufenden Nummern bezeichnet. Die Schnitte kommen der Reihe nach direkt vom Messer in die Schälchen. Der 31. Schnitt kommt wieder mit dem ersten zusammen, unterscheidet sich aber dann schon durch seine äusseren Kontouren, so dass eine Verwechselung schwer möglich ist. Es kann dann jeder Schnitt verschiedenen Färbemethoden unterliegen.

TANDLER[21]) verfährt folgendermassen:

Die Objektträger werden mit den Schnitten beschickt und letztere in Reihen geordnet. Mit Fliesspapier entfernt man dann den überschüssigen Alkohol. Eine unverrückbare Lage der Schnitte erreicht man dadurch, dass angefeuchtete Papierstreifen, welche annähernd doppelt so lang als die Glasplatten sind, fest auf die Objektträger aufgedrückt, mit ihrer freien Hälfte um die Rückseite des Objektträgers umgeschlagen werden und letzterem eine zweite leere Glasplatte von gleicher Grösse fest aufgedrückt wird. Ein so ausgestatteter Objektträger erlaubt nun alle weiter nothwendigen Manipulationen, man ordnet dieselben entsprechend der Schnittserie in einer rechteckigen Glaswanne, welche mit 70%igem Alkohol gefüllt wird, übereinander, falls man nicht sofort eine Färbung der Schnitte vornehmen will.

Beim Färben der Schnitte ersetzt man die angefeuchteten Papierstreifen durch solche, welche vorher den Farbstoff in (bei Hämatoxylinsolution auf das Doppelte) verdünnter Lösung aufgenommen haben. Die Objektträger kommen dann in eine mit Wasser zur Hälfte gefüllte Glaswanne zurück. In 5—24 Stunden ist die Färbung vollzogen. Hierauf werden die den Farbstoff enthaltenden Papierstreifen entfernt und durch mit Wasser angefeuchtete ersetzt. Alle weiteren Manipulationen, Kontrastfärbung, Entwässerung etc. werden also immer so vorgenommen, dass die betreffenden Papierstreifen durch andere ersetzt werden, welche mit den auch für einfache Celloidinschnitte gerade nothwendigen Flüssigkeiten getränkt sind, also aufsteigend mit Wasser, 95%igem Alkohol (eventuell alkoholischer Eosinlösung), Karbolxylol. Die Objektträger befinden sich zu gleicher Zeit immer in einer das betreffende Medium enthaltenden Wanne.

Die Vorzüge der Methode sollen, abgesehen von der als selbstverständlich anzusehenden Forderung der Unverrückbarkeit der Schnitte, einmal darin bestehen, dass der Celloidinmantel des Schnitts nur wenig mitgefärbt und ein Ueberfärben des Präparates ausgeschlossen ist, dann aber auch in der sparsamsten Verwendung der theuren Reagentien, insbesondere der Farben.

Der grösste Vorzug scheint mir jedoch darin zu liegen, dass die Schnitte durch den Fortfall der doppelten, beziehungsweise einfachen Kollodiumschicht an Zartheit nichts einbüssen.

Darkschewitsch [8]) hat uns mit einem verhältnissmässig einfachen Verfahren bekannt gemacht. Derselbe stellt sich aus Fliesspapier runde Scheiben her von ungefähr doppeltem Durchmesser als das zu schneidende Objekt. Dieselben werden mit Bleistift numerirt, mit 70%igem Alkohol durchtränkt und in einem cylindrischen Glasgefäss aufeinander geschichtet. Jeder Schnitt wird nun direkt vom Messer mit einer solchen Scheibe abgehoben und in das Glasgefäss gebracht, bis die ganze Serie von Schnitten, von denen jeder durch eine Fliesspapierscheibe getrennt ist, hergestellt ist. Die weiteren Proceduren werden in dem cylindrischen Gefäss selbst vorgenommen, der 70%ige Alkohol durch destillirtes Wasser, dann durch Farbstofflösung ersetzt u. s. w. Um die allerdings gar nicht störenden Papierscheibchen zu umgehen, hat Streiff [19]) endlich die Verwendung perforirter Glasschälchen angegeben; dieselben dienen zur Aufnahme der Schnitte und erlauben eine Bearbeitung von mehreren Schnitten zu gleicher Zeit. Im Princip Gleiches haben bereits v. Lenhossék [13]) und später Steinach [18]) empfohlen.

Litteratur: [1]) Alexander (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), [2]) Apáthy (Mitth. Zool. St. Neapel, Bd. 7, 1887), [3]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [4]) derselbe (ebenda, Bd. 6, 1889), [5]) Argutinsky (Arch. mikr. Anat., Bd. 55, 1900), [6]) Auburtin (Anat. Anz., Bd. 13, 1897), [7]) Bumpus (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), [8]) Darkschewitsch (cf. Technik v. v. Kahlden), [9]) Dimmer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), [10]) Gage (Proc. Amer. Mikr. Soc., Bd. 14, 1892), [11]) Jordan (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), [12]) derselbe (ebenda, Bd. 17, 1900), [13]) Lenhossék (ebenda, Bd. 3, 1886), [14]) Obregia (Neurol. Centr., Bd. 9, 1890), [15]) Ruffini (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), [16]) Schiefferdecker (ebenda, Bd. 5, 1888), [17]) Staderini (ebenda, Bd. 10, 1893), [18]) Steinach (ebenda, Bd. 4, 1887), [19]) Streiff (Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1900), [20]) Summers (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), [21]) Tandler (ebenda, Bd. 14, 1897), [22]) Weigert (ebenda, Bd. 2, 1885), [23]) Wintersteiner (ebenda, Bd. 10, 1893).

Helbing, Berlin.

Schnittstrecker. Unter diesem Namen hat man eine Anzahl Apparate beschrieben, welche dazu dienen sollen, das Rollen der Paraffinschnitte beim Schneiden zu verhindern und die diesen Zweck auch mehr oder weniger erfüllen. Nach unserer Erfahrung sind sämmtliche völlig überflüssig und lassen sich ersetzen durch einen mittelfeinen langstieligen Tuschpinsel. Das Rollen der Schnitte tritt meistens dann ein, wenn die Temperatur des um-

gebenden Raumes zu niedrig im Verhältniss zum Schmelzpunkt des verwendeten Paraffins ist. Im allgemeinen kann man sagen, dass bis zu einer gewissen Grenze dickere Schnitte sich leichter rollen als dünne. Um das Rollen zu verhindern, drückt man mit dem in der linken Hand gehaltenen Pinsel sanft auf den Paraffinschnitt, sofort nachdem das Messer in den Block eingedrungen ist. Man darf nicht zu stark andrücken, da sich sonst der Schnitt zusammenschiebt. Vor allem aber muss man sich hüten, mit dem Pinsel zwischen Messerschneide und Block zu kommen, was immer dann geschehen wird, wenn man den Pinsel zu früh benutzt, d. h. bevor die Schneide in den Block eingedrungen ist. Es empfiehlt sich, mit angefeuchtetem und ausgedrücktem, nicht mit ganz trockenem Pinsel zu arbeiten.

Von den bekannteren Schnittstreckern seien die von F. E. Schulze, Giesbrecht und Decker hier erwähnt. Sie beruhen im wesentlichen auf dem Princip, dass eine der Messerschneide parallel und in ganz geringer, regulirbarer Entfernung von ihr laufende Walze, ein runder Stab, ein Glasrohr oder eine ähnliche Vorrichtung den Schnitt zwischen sich und der Messerschneide hindurchlaufen lässt und ihn so am Rollen verhindert. Etwas anders ist der Born'sche Schnittstrecker konstruirt. Er besteht aus einem rechteckigen Blättchen Papier, das mit seinem einen, etwas zugespitzten Ende auf dem Paraffinblock und der Messerschneide ruht. Es wird gehalten von einem metallenen Hebel, einer Art ungleicharmigen Wagebalkens, der seinerseits wieder an einem metallenen Stativ mit horizontalem Arm, als Hebelaxe, befestigt ist. Um das Papier mit richtigem, ganz minimalem Druck auf dem Block lasten zu lassen, können auf den einen oder anderen Arm des Hebels Reiter aufgesetzt werden. Das Instrument wird so aufgestellt, dass das vordere Ende des Papiers auf dem hinteren, der Messerschneide zunächst gelegenen Ende der Schnittfläche gerade aufliegt.

Litteratur: F. E. Schulze (Zool. Anz., Bd. 6, 1883), Andres, Giesbrecht und Mayer (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 4, 1883), Decker (Arch. mikr. Anat., Bd. 23, 1883), Born (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893).

Schüttelmethode zur Isolirung von Blastomeren siehe Experimentell-embryologische Technik.

Schwann'sche Scheide siehe Nervenfasern, Schwann'sche Scheide derselben.

Schwedisches Grün, Scheele'sches Grün, Kupferarsenit, $CuHAsO_3$, entsteht durch Fällung von Kupfervitriol mit arsenigsaurem Kalium. Diese Reaktion benutzt Robin zur Herstellung einer grünen Injektionsmasse.

Schwefel. Der Schwefel kommt in den Handel entweder in krystallinischen Stangen oder als feines Pulver, Schwefelblumen, das durch Sublimation erhalten wird. Beide unterscheiden sich dadurch, dass ersterer in Schwefelkohlenstoff vollständig, letzterer wegen seines hohen Gehalts an amorphem Schwefel nur sehr unvollständig löslich ist. Beide enthalten noch Spuren von Schwefelsäure, Arsen und Selen, welche durch Behandlung von Ammoniak entfernt werden (Sulfur depuratum). Der präcipitirte Schwefel, Sulfur praecipitatum, wird erhalten durch Zerlegung der Polysulfide mittels Salzsäure. Er ist in Schwefelkohlenstoff völlig löslich. Der Schwefel ist unlöslich in Wasser, fast unlöslich in Glycerin, wird dagegen von vielen anderen Solventien gelöst. Nach Payen löst sich Stangenschwefel bei 15° in absolutem Alkohol zu 0,12%, in Aether zu 0,19%, in Chloroform zu 1,2%, in Terpentinöl zu 1,35%, in Benzol zu 1,79%, in einer Mischung von gleichen Theilen der beiden letzteren zu 2,19%, in Petroleum zu 2,77%, in Schwefel-

kohlenstoff zu 38,70%. Kali- und Natronlauge und in geringerem Masse auch Ammoniak lösen den Schwefel in der Wärme unter Bildung von Polysulfiden und Thiosulfat, koncentrirte Mineralsäuren führen ihn in Schwefelsäure über. Auch in warmem Eisessig ist Schwefel löslich.

Schwefelammonium, $NH_4 . SH$, stellt in wässeriger Lösung eine farblose, sich bald gelb färbende Flüssigkeit dar, die entsteht durch Sättigung von Liquor ammonii caust. mit Schwefelwasserstoff. Sie soll in gut verschlossenen Gefässen aufbewahrt werden, da sie sich sonst bald unter Schwefelabscheidung zersetzt.

Das Schwefelammonium vermag bekanntlich aus Metallsalzlösung Schwefelmetalle abzuscheiden. Diese Eigenschaft wird auch in der Mikrotechnik vielfach benutzt bei der Imprägnation mit Gold- und Silbersalzen, vor allem aber bei der Erkennung des Eisens in den Geweben (siehe Eisen).

Schwefelbakterien siehe Beggiatoa.

Schwefelkohlenstoff, Kohlendisulfid, Schwefelalkohol, CS_2, wird dargestellt durch Ueberleiten von Schwefeldampf über glühende Kohlen und stellt eine wasserhelle, eigenthümlich, in frischem Zustand nicht sehr unangenehm riechende Flüssigkeit von specif. Gewicht 1,272 dar. Siedepunkt bei 46°, Brechungsindex 1,628. Er ist in Wasser nur zu 0,1% löslich, leicht löslich dagegen in Alkohol, Aether, Anilin und fetten Oelen. Er wird von Mineralsäuren nicht angegriffen und ist ein ausgezeichnetes Lösungsmittel für Phosphor, Schwefel, Jod, Oele, Harze, Fette, Paraffin etc.

Der Schwefelkohlenstoff hat stark fäulnisswidrige Eigenschaften, an Luft und Licht nimmt er allmählich eine gelbe Farbe und sehr unangenehmen Geruch an.

Der Schwefelkohlenstoff verdankt seinem grossen Lösungsvermögen für Fette und Paraffin seine Anwendung in der Mikrotechnik, so dient er als Entfettungsmittel für Knochen und als Intermedium bei der Paraffineinbettung. Der hohe Brechungsindex, der noch durch Sättigung mit Schwefel (1,750) oder Phosphor (1,950) gesteigert werden kann, kann für den Einschluss mancher mikroskopischer Objekte von Nutzen werden.

Schwefelsäure (Acidum sulfuricum) H_2SO_4. Diese schon seit altersher bekannte und wichtigste aller Säuren wurde früher durch Erhitzen von Eisenvitriol (Nordhäuser Schwefelsäure) gewonnen, bis dieses Verfahren durch den Kammerprocess verdrängt wurde. Bei diesem wird Schwefel oder schwefelhaltiges Mineral bei Luftzutritt zu schwefliger Säure (SO_2) verbrannt, die dann durch Salpetersäure, resp. Stickoxyd zu Schwefelsäure oxydirt wird (englische Schwefelsäure).

Neuerdings wird die Schwefelsäure vielfach nach einer anderen Methode, mit Hilfe des Kontaktverfahrens (von Clemens Winckler) dargestellt. Das Princip desselben ist, dass eine sauerstoffübertragende (Kontakt-) Substanz (Platin, Eisenoxyd etc.) die Vereinigung von schwefliger Säure und Sauerstoff zu Schwefelsäureanhydrid ($SO_2 + O = SO_3$) bewirkt, das mit Wasser sofort in Schwefelsäure übergeht.

Acidum sulfuricum purum oder destillatum des Handels ist der oberhalb 330° siedende Antheil der rohen englischen Schwefelsäure. Diese Säure hat das spec. Gew. 1,842 bei 12° und enthält durchschnittlich $1^1/_2$% Wasser.

Reine wasserfreie Schwefelsäure gewinnt man durch Ausfrieren der vorigen, wobei sie sich in Krystallen vom Schmelzpunkt + 10,5° abscheidet und dann genau der Formel H_2SO_4 entspricht; leichter erhält man sie aus SO_3 und der berechneten Menge Wasser. Sie hat bei 15° das spec. Gew. 1,8372, entwickelt schon bei 40° weisse Dämpfe von SO_3, während bei 330° wieder die Säure mit einem Gehalt von $1^1/_2$% H_2O destillirt.

Koncentrirte Schwefelsäure ist eine ölige, dicke Flüssigkeit; sie besitzt eine grosse Affinität zu Wasser, die auf die Tendenz zur Bildung von Hydraten, wie $H_2SO_4 + H_2O$ und $H_2SO_4 + 2H_2O$ etc. zurückzuführen ist. Die Vereinigung mit Wasser erfolgt unter erheblicher Wärmeentwicklung, die ein Sieden der Flüssigkeit veranlassen und sogar explosionsartige Erscheinungen bewirken kann. Deshalb muss man beim Mischen stets die Vorsicht gebrauchen, die Säure in kleinen Mengen ins Wasser fliessen zu lassen und niemals umgekehrt zu verfahren.

Auf der energischen wasserentziehenden Wirkung der Schwefelsäure beruht auch ihr Verhalten zu vielen organischen Substanzen. Indem sie diesen die Elemente des Wassers — d. h. Sauerstoff und Wasserstoff — entzieht, verwandelt sie dieselben in Kohle oder dunkle, kohlenstoffreiche Gebilde. Hierauf beruht die Schwärzung von Zucker, Holz oder Papier durch koncentrirte Schwefelsäure.

Die Schwefelsäure ist eine sehr starke Säure, die fast alle organischen und anorganischen Säuren aus deren Salzen verdrängt. Dagegen wird sie durch einige Metalle oder Metalloide, wie Kupfer, Quecksilber, Kohle, Schwefel, Phosphor etc. unter Reduktion zu schwefliger Säure zerlegt. Sie löst fast alle Metalle auf, mit Ausnahme von Blei und den Edelmetallen Gold und Platin.

Die schwefelsauren Salze oder Sulfate sind grösstentheils wasserlöslich, schwerlöslich ist schwefelsaures Blei, fast oder ganz unlöslich sind die Sulfate der Erdalkalien (Ca, Sr, Ba). Das Verhalten der letzteren dient zur Erkennung der Schwefelsäure, die mit allen löslichen Baryumsalzen einen weissen pulverigen Niederschlag erzeugt. *Neuberg*, Berlin.

Die Schwefelsäure hat in der Mikrotechnik unter den Mineralsäuren wohl die geringste Verwendung gefunden, als Entkalkungsmittel ist sie natürlich untauglich, dagegen findet sie beschränkte Verwendung als Macerationsmittel besonders für epidermoidale Gebilde (pag. 756). Auch manchen Fixationsmitteln, wie Chromsäure oder Pikrinsäure, wird sie in geringen Mengen zugesetzt.

Schwefelwasserstoff, H_2S, wird erhalten, indem man, meist in dem Kipp'schen Gasentwicklungsapparat, ein Schwefelmetall, Schwefeleisen oder Schwefelantimon, mit Salzsäure übergiesst. Leitet man das entstehende Gas in abgekochtes, destillirtes Wasser ein, so absorbirt dasselbe bis zu seinem dreifachen Volumen den Schwefelwasserstoff (Schwefelwasserstoffwasser, Aqua hydrosulfurata). In noch höherem Masse wird das Gas von Alkohol absorbirt. Die Reaktion dieser Flüssigkeiten ist schwach sauer. In schlecht verschlossenen Gefässen findet sehr bald eine Zersetzung unter Abscheidung von Schwefel statt. Der Schwefelwasserstoff hat den Charakter einer schwachen zweibasischen Säure, seine wichtigste Eigenschaft ist die, aus Metallsalzlösung unlösliche Schwefelmetalle abzuscheiden. Auf dieser Eigenschaft beruht auch seine Verwendung in der Mikrotechnik. (Näheres siehe Bleiformiat und Golgimethode.)

Schweflige Säure, Acidum sulfurosum, H_2SO_3, entsteht durch Verbrennen von Schwefel oder durch Erhitzen von Kupfer oder Schwefel mit englischer Schwefelsäure und Ueberleiten des entstandenen Schwefeldioxyds in Wasser. 1 Vol. Wasser nimmt ungefähr 43 Vol., 1 Vol. Alkohol 115 Vol. auf. Die wässerige schweflige Säure ist eine starksaure, stechend riechende Flüssigkeit, die aus der Luft oder oxydirenden Agentien begierig Sauerstoff aufnimmt und in Schwefelsäure übergeht. Sie ist deshalb ein vorzügliches Reduktions- und Bleichmittel. Die Säure bildet Salze, Sulfite, die beim Zusatz einer Säure leicht unter Abspaltung von schwefliger Säure zerfallen.

Die reducirende Wirkung der schwefligen Säure wird in der Mikrotechnik vielfach zum Bleichen benutzt, so für Osmium- und Hämatoxylinpräparate. Sie dient ferner als geschätztes Entkalkungs- und Macerationsmittel und ist auch als Fixationsmittel in alkoholischer Lösung gerühmt worden.

Schweineseuchebacillus, Bacillus suisepticus. Die Bacillen der Schweineseuche färben sich gut mit den gebräuchlichen wässerigen Lösungen der Anilinfarben. Dabei zeigen sie nicht selten in ihren centralen Theilen eine ungefärbte Stelle, so dass die Pole der Bakterien stärker gefärbt erscheinen als die Mitte. Sind die Bakterien sehr stark gefärbt, so sind sie gleichmässig gefärbt und zeigen eine ungefärbte centrale Mitte nicht. Nach der GRAM'schen Methode färben sich die Bacillen der Schweineseuche nicht. Schnitte färbt man nach den für die Färbung von Bakterien in Schnitten angegebenen Methoden. *Künnemann,* Breslau.

Schweissdrüsen. Zur Fixation der Schweissdrüsen bevorzugt HEYNOLD MÜLLER'sche Flüssigkeit oder 2%iges Ammoniumbichromat oder 0,5%ige Osmiumsäure. RANVIER fixirt kleine Hautstückchen 24 Stunden lang in 1%iger Osmiumsäure oder Alkohol, oder er injicirt die Osmiumsäure subkutan. UNNA empfiehlt zu demselben Zweck, speciell zur Darstellung des Fettes in den Epithelzellen seine Methode der sekundären Osmirung. Kleine Hautstücke kommen 24 Stunden lang bei Bruttemperatur in 1%ige wässerige Pikrinsäure, der man 1‰ Salpetersäure und 1% Gerbsäure und eventuell noch 5% Essigsäure zusetzt. Sie werden dann möglichst rasch in Alkohol entwässert und in Celloidin eingebettet. Die Osmirung der Schnitte erfolgt in 1%iger Osmiumsäure mit Zusatz von 1% Alaun.

Beim Menschen finden sich die meisten Schweissdrüsen in der Achselhöhle, in der Vola manus und in der Planta pedis. Die grössten Schweissdrüsen finden sich in der Achselhöhle und der nächsten Umgebung des Afters. Die günstigsten Objekte für die Untersuchung der Schweissdrüsen bilden die Katzenpfote und die Rüsselscheibe des Schweines (LUCHSINGER). Zur künstlichen Erregung der Sekretion eignen sich vor allen Pilokarpin, Muskarin, Nikotin und Physostigmin.

Zur Isolirung der Schweissdrüsen kann man kleine Hautstückchen in verdünnter MÜLLER'scher Flüssigkeit, in dünner Essigsäure oder durch anhaltendes Kochen in Salzsäurealkohol (1%) maceriren (HEYNOLD).

Zur Darstellung der Nerven der Schweissdrüsen empfiehlt RANVIER (1887) seine Goldmethoden, SFAMENI die Vergoldung nach FISCHER oder LÖWIT, ARNSTEIN die vitale Methylenblaufärbung.

Litteratur: HEYNOLD (VIRCH. Arch., Bd. 61, 1874), RANVIER (Le mécanisme de la sécrétion, Paris 1887), derselbe (Compt. rend., Bd. 89, 1879), derselbe (Journ. micrograph., 1887), UNNA (Deutsche Medicinalzeitung, 1898), LUCHSINGER (Schweissabsonderung in HERMANN, Handbuch der Physiologie, Bd. 5, Leipzig 1881), SFAMENI (Arch. ital. Biol., Bd. 29, 1898), ARNSTEIN (Anat. Anz., Bd. 10, 1895).

Seewasser, künstliches, vergl. pag. 290.

Sehorgan. I. Lider nebst Konjunktiva.

A. Mikroskopische Untersuchung der normalen Struktur des Lides und seiner Bestandtheile:

Abgesehen von der Anfertigung von Gefrierschnitten und der Methode des trockenen Schneidens der Lidhaut[1]) kommen hierfür hauptsächlich folgende Methoden in Betracht:

1. Die Herstellung von Schnitten des regulär fixirten und eingebetteten Materials.

Die Untersuchung von Quer- und Flachschnitten des Lides ist umsomehr zu empfehlen, als einmal auf dem relativ kleinen Terrain eines Schnittes durch die Lider nahezu sämmt-

liche Gewebsarten des Körpers vertreten und deshalb, wie kaum an einer anderen Stelle des Körpers, gleichzeitig in ausserordentlich instruktiver Weise zur Anschauung zu bringen sind; sodann deshalb, weil die Zahl wirklich guter, nicht schematisirter Abbildungen von derartigen Schnitten noch eine relativ sehr geringe ist, was mit der ausserordentlichen Schwierigkeit der Beschaffung frischen und geeigneten Materials zu erklären ist. Jede der äusserst seltenen Gelegenheiten, ein gut konservirtes menschliches Lid zu erhalten und dieses werthvolle Material auszunutzen, sollte daher unbedingt wahrgenommen werden.

Die Fixirung erfolgt am besten in Alkohol, dem Universalfixirungsmittel der Dermatologen, in MÜLLER'scher Lösung, in Osmiumsäure, bezw. mit dieser hergestellten Gemischen. Das Lid wird in möglichst grosser Ausdehnung unter Mitnahme der am Limbus corneae abgelösten Konjunktiva bulbi abgetrennt und auf einer Kork- oder besser auf einer Wachsmodellirplatte sorgfältig ausgebreitet und mit Igelstacheln befestigt. Die Alkoholfixirung und Härtung ist relativ einfach und sind die damit zu erzielenden Resultate als für alle dermatologischen Zwecke völlig ausreichend zu bezeichnen.

Einbettung in Celloidin oder Paraffin; mit letzterem muss die Einbettung mit Rücksicht auf die Einlagerung ausgedehnter Massen derben Bindegewebes sehr vorsichtig und unter möglichster Abkürzung des Aufenthaltes in Alkohol wie der Einwirkung höherer Temperaturen erfolgen; nur bei vollkommenster Beherrschung der Paraffintechnik ist es, sobald es sich um einen derberen Tarsus (älterer Personen) handelt, möglich, ausreichende feine Schnitte zu erhalten. Eine wesentliche Erleichterung gewährt in diesen Fällen die kombinirte Celloidin-Paraffineinbettung (siehe pag. 117 ff.).

Die Paraffineinbettung ist besonders wichtig für die Darstellung der Epithelfasern nach KROMAYER's Verfahren. Ueber Formol als Fixationsmittel siehe Bulbus.

2. Die Untersuchung des frischen Gewebes (Gefrierschnitte, zerzupftes Gewebe) Fixation des Gewebes durch Methylgrünlösung mit Zusatz von $^3/_4$% Essigsäure und nachfolgende Einwirkung von Osmiumdämpfen ($^1/_4$ Stunde), darauf Zusatz von 1 Tropfen des Gemisches von RIPART und PETIT.[2])

3. Isolirung der Elemente in Jodserum (RANVIER), 10%iger Kochsalzlösung (Pflasterepithel der Konjunktiva), koncentrirter Salpetersäure, RANVIER's Drittelalkohol oder nach Einlegen in MÜLLER's Lösung.

4. Darstellung der Konfiguration des Epithelprotoplasmas, der Epithelfasern:

a) durch Härtung in Ammon. bichrom., Einbetten in Gummi, Härten in Alkohol, Schneiden, Einlegen in Phenylwasser ohne Färbung.[3])

b) Fibrinfärbung nach WEIGERT.

c) KROMAYER's Methode.

5. Darstellung des Keratohyalin, Eleïdin, Keratin, Mucin, siehe unter Haut, beziehungsweise Schleimfärbung. Die Anstellung von Mucinreaktionen ist besonders wichtig zum Nachweis der schon in der normalen Konjunktiva vorhandenen sogenannten STIEDA'schen Becherzellen (Darstellung der Oeffnungen durch Versilberung).

6. Cilien: Unzerzupft in Kochsalz-Lösung, Glycerin oder Xylol. Zur Isolirung der Elemente Einlegen in 40%ige Kalilauge oder in koncentrirte Schwefelsäure, Deckglas, mit der Nadel drücken; oder Maceration theils frischer, theils in MÜLLER's Lösung fixirter Haare bei 40° C. in Pepsin-Salzsäure-Glycerin ($^1/_2$%ige Lösung von Pepsin in 1%igem Salzsäure-Glycerin); zur Darstellung der Elemente des Haarbalgs Ausschneiden eines 2 Cm. grossen Stückes des Wimperbodens und Einlegen für 2 Tage in 5%ige Essigsäure, Ausziehen der einzelnen Haare mit Scheiden, Zerzupfen.

Für Schnittpräparate:

Fixirung in MÜLLER, Härtung in Alkohol, Einbetten in Paraffin, Färbung in verdünntem Hämatoxylin-BÖHMER, 12 Stunden Differenzirung in salz-

saurem Alkohol, Auswaschen, Nachfärbung mit verdünnter Pikrineosinlösung, Auswaschen in $70^0/_0$igem Alkohol; Alkohol, Xylol, Balsam.

Ueber die Entwicklung der Wimpern s. Litt. 4.

7. Kollagen, siehe den hierüber handelnden Artikel.

8. Elastisches Gewebe: Die Entstehung desselben ist noch unklar (Theorien von O. HERTWIG und RANVIER, vgl. RANVIER, Technisches Lehrb. d. Histologie).

FUCHS betrachtet die Auflösung der elastischen Fasern in Körner als ein Zeichen der regressiven Metamorphose, beziehungsweise beginnender hyaliner Degeneration der elastischen Fasern.[5]) Siehe Elastin.

9. Fettgewebe ist im subkutanen Zellgewebe der Lider — der Muskelschicht aufgelagert — nur ausserordentlich dürftig entwickelt, bisweilen fehlend (nach MERKEL und KALLIUS fehlt es absolut, so dass das erste Auftreten von Fetttraubchen die Grenze des Lides anzeigt. Ueber den Nachweis s. Fett).

10. In der Tunica propria der Konjunktiva findet sich bekanntlich retikuläres, adenoides Gewebe, in dessen Maschen sich Lymph- und Plasmazellen befinden. Ueber die Darstellung siehe pag. 5.

11. Muskel und Drüsengewebe der Lider sind mittels der üblichen Uebersichtsfärbungen mit besonderer Exaktheit auch durch das Eisenhämatoxylin-Pikrofuchsinverfahren darzustellen. Die Nervenendigungen der quergestreiften Lid- und äusseren Augenmuskeln sind zweckmässig mit der Goldchloridmethode darzustellen.[6]) S. Goldmethoden.

12. Das Blutgefässsystem der Lider ist sowohl von der Art. ophthalmica, wie von der Art. infraorbitalis (Ast der Maxillaris interna), wie auch schliesslich von der Maxillaris externa (ELSCHNIG) zu injiciren.

Von Bedeutung ist, dass bei dem Fehlen von Klappen in den Venen der Orbita eine bestimmte Richtung dem Blutstrom in dem Stamme der Vena ophthalmica nicht gegeben ist. Für gewöhnlich fliesst jedoch nach neueren Untersuchungen[7]) das venöse Blut, auch von der Stirn und den Lidern, nach dem Sinus cavernosus, nicht nach der Vena facialis ant. (SESEMANN 1869) ab.

Dagegen kann die Entleerung des venösen Blutes der Gesichtshaut in den Sinus cavernosus wegen der Klappen in der Vena angularis und an der Kommunikationsstelle der Vena ophthalmica inferior mit den Venen der Unterschläfengrube nur theilweise erfolgen.

13. Die Darstellung der Lymphbahnen der Lider erfolgt durch Einstichinjektion. Nach dem Verfahren von FUCHS gelingt es *a)* durch Einstich unter die Conjunctiva tarsi ein konjunktivales und praetarsales Lymphgefässnetz zu injiciren, *b)* durch Einstich im Limbus corneae die Lymphgefässe der Conjunctiva bulbi zu füllen.

Neuerdings hat GRUNERT[8]) durch Einstich in die Lidhaut in der Nähe der Lidkante das Abflusssystem der Lymphe aus den Lidern, indem er sich des Verfahrens und der Injektionsflüssigkeiten von GEROTA bediente, in grösster Vollständigkeit darstellen können.

Nach GRUNERT besteht ausser dem konjunktivalen und praetarsalen noch ein reich entwickeltes Lymphgefässnetz der Lidhaut, das aus dem supramuskulären Fettgewebe des Lides hervorgeht. Alle drei Systeme anastomosiren vielfach. Der Abfluss der Lymphe erfolgt von der medialen Hälfte des Lides im Wangenfett und nasalwärts von der über dem Musculus buccinator gelegenen Anhäufung von Fettgewebe nach unten zu den Lymphknoten in der Umgebung der Submaxillardrüse; von der temporalen Hälfte des Lides nach den Praeaurikular-, bezw. Parotislymphknoten.

Die Endigung der Lymphgefässe der Conjunctiva bulbi, ob blind am Hornhautrande oder mit Ausläufern im Hornhautgewebe, ist strittig.

B. 1. Cirkulationsstörungen: Für den Nachweis von Oedem der Lidhaut (nach Excision etwa bei Tumoren der Orbita, die auch das Lid ergriffen haben oder an der Leiche) ist die Kochmethode[9]) und die nachherige Anfertigung von Gefrierschnitten zu empfehlen.

Das Lidödem bei Trichinose wird theils als entzündliches Oedem, theils als abhängig von einer Verstopfung und Thrombose der kleineren Lymphgefässe aufgefasst. Zu seiner

Entstehung ist jedenfalls die Anwesenheit von Trichinen in der Lidmuskulatur nicht erforderlich.

2. Entzündungen und parasitäre Erkrankungen: Schuppen werden nach UNNA (cit. n. JOSEPH u. LOEWENBACH) durch Heftpflaster erweicht, mit dem Pflaster abgehoben, von diesem durch Benzin oder Xylol entfernt. Das Material wird durch Einbringen in Aetheralkohol oder Alkohol allein auf 1—2 Tage entfettet, dann in Aq. dest. oder Kochsalz-Lösung auf dem Objektträger zerzupft, fein vertheilt, getrocknet, durch Erhitzen fixirt und mit einem beliebigen Anilinkernfarbstoff gefärbt.

Nach einem anderen Verfahren kann man die Färbung in vivo auf den abzukratzenden Hautpartien vornehmen, abkratzen und in Glycerin untersuchen.

Bei den an der Lidhaut selten zur Beobachtung kommenden Favuserkrankungen empfiehlt sich die Untersuchung nach KELLOGG.

Die Untersuchung der besonders zur Zeit der Vaccination an den Lidern zur Beobachtung kommenden Vaccinepusteln unterscheidet sich in nichts von derjenigen an anderen Hautstellen.

Zur Darstellung der Molluskumkörperchen bei Molluscum contagiosum genügt eine Uebersichtsfärbung nach VAN GIESON oder die frische Untersuchung und Färbung mit Methylgrün (cf. oben).

Der Nachweis des Acarus folliculorum, der bei der Seborrhoea oleosa der Stirn- und Lidhaut, ferner in den Komedonenpfröpfen und ganz besonders häufig von RÄHLMANN bei Trachomkranken, die gleichzeitig an Blepharitis ciliaris litten [10]), gefunden ist, bedingt keine besondere Methodik.

Cysticercusblasen werden als elastische Geschwülste zwischen den Muskelbündeln der Augenlider, umgeben von einer fibrösen, bezw. aus chronischem Granulationsgewebe bestehenden Kapsel gefunden. Zu ihrer Untersuchung genügt es, die Blasen mit einer feinen Scheere zu öffnen oder die Skolices zwischen zwei Objektträgern zu zerquetschen.

Ueber den Nachweis der als Konjunktivitiserreger in Betracht kommenden Pneumokokken, des NEISSER'schen Gonococcus, des Streptococcus pyogenes, des KLEBS-LÖFFLER'schen Diphteriebacillus, der Staphylokokken siehe in den betr. Artikeln.

Bezüglich des Gonococcus ist zu sagen, dass die eitrigen Konjunktivitisformen der Neugeborenen nur zum Theil auf Gonokokken zurückzuführen sind, und dass deshalb bei methodischer Untersuchung der Fälle von Blennorrhoe in einer ganzen Anzahl Gonokokken vermisst und dafür Diplokokken, Pneumokokken, Streptokokken gefunden werden. Die Konjunktiva des Neugeborenen reagirt zweifellos auch auf andere Mikroorganismen viel heftiger als die des Erwachsenen, so dass dadurch Bilder von gonorrhoischer Konjunktivitis vorgetäuscht werden können. Aehnliches gilt für die Bindehautblennorrhoe der Erwachsenen. Es ist deshalb die Vornahme der bakteriologischen Untersuchung differentiell-diagnostisch von grösster Bedeutung.

Der FRÄNKEL-WEICHSELBAUM'sche Kapseldiplococcus, zweifellos zu den Erregern der akuten Konjunktivitis gehörend, wird besonders in den spärlichen Eiterflocken, die in dem geringen, wässerigen Sekret suspendirt sind, gefunden.

Den Streptococcus pyogenes, der sehr selten auch als Bewohner der normalen Konjunktiva gefunden ist, trifft man bisweilen bei einfach katarrhalischen, häufiger bei pseudomembranösen, resp. diphtheritischen Bindehautentzündungen. Die Infektion der Konjunktiva kann auch auf metastatischem Wege bei allgemeiner Streptokokkenseptikämie erfolgen. Hierbei sind reichliche Streptokokkenanhäufungen in den Gefässen der Konjunktiva mikroskopisch nachzuweisen. [11])

Der KLEBS-LÖFFLER'sche Diphtheriebacillus ist der Erreger sowohl der relativ leichten, oberflächlichen, sog. Conjunctivitis crouposa, wie der schweren tiefgreifenden, zur wirklichen Diphtherie zu rechnenden, nekrotischen Form, ebenso wie umgekehrt dieselben Formen auch durch andere Mikroorganismen bedingt sein können.

Zur Färbung ist besonders die Ernst-Neisser'sche Färbungsmethode (siehe pag. 171) zu empfehlen.

Die Differenzen zwischen dem Diphtheriebacillus und dem Xerosebacillus im färberischen und kulturellen Verhalten sind jedoch so unbedeutend, dass als Unterscheidungsmittel ausschliesslich die Prüfung auf Giftigkeit in Betracht kommt.[12])

Staphylokokken sind Bewohner des normalen Bindehautsackes. Ihre Anwesenheit steht nicht in Beziehung zur Conjunctivitis, bew. Keratitis phlyctaenulosa. Frische, noch nicht eröffnete Phlyctänen ergaben bei der Untersuchung oft das gänzliche Fehlen von Bakterien. Wo Staphylokokken gefunden werden, ist, ebenso wie bei dem Ekzem der äusseren Haut, an Sekundärinfektion zu denken.

Als speciell dem menschlichen Bindehautsack zukommende Erreger entzündlicher Affektionen sind anzusehen[13]):

a) Der Koch-Weeks'sche Bacillus[14]); derselbe ist ein relativ häufiger Erreger der akuten, kontagiösen, bisweilen epidemisch auftretenden Konjunktivitis. Er färbt sich mit den verschiedenen Anilinfarben gut. wird aber nach Gram entfärbt. Die Kultivirung, am vortheilhaftesten aus dem Sekret sehr heftiger Fälle, gelingt schwierig, am besten auf 0,5%igem Agar.

b) Der Diplobacillus (Morax-Axenfeld), ein für die menschliche Konjunktiva unbedingt pathogener Bacillus, der sich gewöhnlich massenhaft im Sekret, oft in Reinkultur, frei oder zusammen mit Leukocyten zu zweien oder auch in längeren Ketten angeordnet, findet. Derselbe wird nach Gram entfärbt.

c) Diplokokken, die als Erreger gewisser epidemisch auftretender, mit dem Trachom — dessen Erreger unbekannt — nicht zu identificirender Follikularkatarrhe anzusehen sind. Dieselben sind sehr spärlich im Follikelgewebe zu finden, wie auch durch Kulturen mit ausgedrücktem Follikelinhalt zu isoliren gewesen (Sattler, v. Michel).

Zur Darstellung der von Katharina-Kastalsky bei Trachom gefundenen sog. Hyalinkugeln, die gegenüber Alkohol, Aether, Chloroform, Säuren und Alkalien resistent sind, Färbung mit Hämatoxylin-Eosin verweigern, dagegen basische Anilinfarben intensiv annehmen, empfiehlt dieselbe folgendes Verfahren: »Färbung nach Gram; Differenzirung mit Aceton und Alkohol mit Zusatz von Pikrinsäure. Dieses Differenzirungsmittel lässt bei kürzerer Einwirkung die violette Färbung der Kugeln bestehen, bei längerer wird dagegen letztere durch die Pikrinsäurefärbung ersetzt. Ueber Fundort und Entstehen siehe (15). Diese Kugeln haben mit dem Epithel- und Bindegewebshyalin nur den Namen gemeinsam; dieselben werden auch bei anderen chronischen Bindehautaffektionen gefunden.

Bei Trachom sind ferner von Peters nachgewiesen ovale Gebilde, die, mit einem Fasergewirr zusammenhängend, ein seiner chemischen Konstitution nach unbekanntes Gerinnungsprodukt darstellen, welches sich frisch mit Methylenblau, in Schnitten im Gegensatz zu den sogenannten hyalinen Kugeln mit allen gebräuchlichen Kerntinktionen, am besten nach van Gieson färben.

Ueber die Färbung der ebenfalls von Peters gleichfalls bei Trachom gefundenen Russel'schen Fuchsinkörper siehe pag. 407.

Nach demselben Autor sind mit den letztgenannten Körpern wohl identisch die in den sogenannten Leber'schen Körperchenzellen vorkommenden Zelleinschlüsse, obwohl dieselben im frischen Zustande durch Triacid nicht gefärbt werden.

Ueber die Färbung der Mastzellen siehe pag. 789.

Alle diese Gebilde werden ausser bei Trachom ebenso wie die Becherzellen bei allen chronischen Bindehauterkrankungen gefunden.

Ferner wird bekanntlich bei Trachom, aber auch an vorher gesunden Augen vom subkonjunktivalen, adenoid gewucherten Zellgewebe aus-

gehende amyloide Degeneration der Konjunktiva, der eine hyaline Entartung des Gewebes vorausgeht, gefunden.

Ueber den Nachweis von Amyloid, Epithel- und Bindegewebshyalin siehe pag. 36 u. 541.

Die Untersuchung tuberkulöser, syphilitischer und lepröser Krankheitsprodukte an den Lidern bietet keine Besonderheiten.

3. Geschwülste. Die beim Xanthom in den Lymphlücken und grösseren Lymphräumen der Cutis liegenden, aus einer Wucherung der Endothelzellen der Lymphspalten (Endothelioma lipomatodes) hervorgehenden Xanthomzellen. neben welchen auch Zellen mit kleinen, gelben Pigmentkörnern vorkommen, geben die Reaktionen der Zellen des Fettgewebes.

Darstellung der Fettzellen in subkonjunktivalen Lipomen, im subepidermoidalen Gewebe der parakornealen Dermoide siehe Fett.

II. Thränendrüsen. Technik siehe Speicheldrüsen. Zum Nachweis des normaler Weise in fast sämmtlichen (besonders in den secernirenden) Epithelien der Drüsentubuli und der Ausführungsgänge enthaltenen Fettes, welches nach AXENFELD [16]) einer Ausstossung in das Drüsenlumen nicht unterliegt, dient Fixation der Drüsen in FLEMMING'scher Lösung und Färbung mit Safranin. Darstellung der Zellgranula mit dem ALTMANN'schen Fuchsinpikrinsäuregemisch. Zur Untersuchung besonders geeignet ist die Thränendrüse der Katze.

III. Augapfel als Ganzes. Die Herausnahme erfolgt nach dem jedem Mediciner geläufigen BONNET'schen Verfahren. Bei Thieren mit sehr leicht zerreisslicher Conjunctiva bulbi fasst man bei der cirkulären Ablösung derselben vom Hornhautrande mit der Pincette nicht diese selbst, sondern das derbe Bindegewebe in der Nähe der Nickhaut, bezw. Plica semilunaris, und macht den ersten Schnitt mit der Scheere medialwärts von der Pincette. Man hat dann bei dem weiteren Vorgehen einen festen Haltpunkt. — Darf man nur die hintere Hälfte entfernen, so geschieht das in bekannter Weise nach Entfernung des Orbitaldaches oder, wenn die Gehirnsektion unterbleibt, nach dem Vorschlage von GREEF [17]) durch Herausnehmen des Bulbus von vorn, Abtrennen der hinteren Hälfte und Reposition der vorderen. Es erscheint Verf. dieses Verfahren in jedem Fall, wenn man nicht den ganzen Sehnerv inklusive Chiasma mitnehmen will, gegenüber der unendlich rohen Methode des Durchtrennens vom Orbitaldach aus als das bessere. — Ersatz von Leichenaugen durch die heute so billigen Glasaugen, oder in Formol vorräthig gehaltene Thieraugen. — Anbringung einer beliebigen Orientirungsmarke vor der Enukleation.

Bei Stauungspapille empfiehlt es sich, den Opticus vor der Durchtrennung abzubinden, ferner, wenn man ihn nicht vollständig herausnehmen will, ihn zum mindesten soweit abzusetzen, dass sich die Durchtrittsstelle der Vena centralis (6—20 Mm. hinter dem Bulbus) mit am Präparat befindet. [18]) Ueber die morphologischen Unterschiede im Bau der Augen der verschiedenen Wirbelthiere behufs Klassificirung und Orientirung an denselben vergleiche SELIGMANN. [19])

Ein ausreichendes Orientirungsvermögen des Untersuchers kann jedoch, zumal da die differentiellen Masse doch nur Durchschnittswerthe darstellen und nach Alter und Entwicklung variiren, wohl weniger durch Beschreibungen wie auf Grund praktischer, an einem reichhaltigen Material gesammelter Erfahrungen gewonnen werden.

Ein Aufschneiden des Bulbus vor der Fixation kommt nur in Betracht:

1. wenn Theile des Bulbusinhaltes oder seiner Wandungen in frischem Zustand untersucht, ihre Elemente isolirt, der Wirkung verschiedener Reagentien ausgesetzt, Exsudate unverändert untersucht werden sollen;

2. wenn die verschiedenen Theile verschiedenen Behandlungsmethoden (der Einwirkung verschiedener Fixationsflüssigkeiten) ausgesetzt oder überhaupt nur einzelne Theile des Inhaltes oder der Wandungen unter Vernachlässigung der übrigen untersucht werden müssen.

3. Behufs makroskopischer Orientirung über die topographischen Verhältnisse von krankhaften Veränderungen oder Produkten oder von Fremdkörpern nur dann, wenn letztere absolut nothwendig erscheint.

Eine solche ist allerdings für den Anfänger ganz besonders wichtig, der noch nicht Gelegenheit gehabt hat, sich über das Aussehen der in Betracht kommenden Verhältnisse bei makroskopischer Untersuchung nach Wegfall der bei der ophthalmoskopischen Untersuchung vorhandenen Vergrösserung und Farbenverhältnisse zu informiren. Abgesehen von dem instruktiven Werth lässt sich durch häufige Uebung im makroskopischen Betrachten eine ganz bedeutende Schärfung des Blickes erzielen, die das weitere Arbeiten häufig ausserordentlich erleichtert. Leider wird von einer solchen Uebung im Interesse der geschulteren Untersucher, denen es behufs Feststellung mikroskopischer Details auf die Erhaltung des Bulbus in toto ankommt, nur allzu oft Abstand genommen.

Und es ist in der That für die mikroskopische Untersuchung ausserordentlich wichtig, dass der Bulbus mit seinem Inhalt vor der Fixirung der Gewebe durch Zertheilen nicht mehr oder weniger hochgradig lädirt wird. Es ist hierbei vielleicht nicht unwichtig, darauf hinzuweisen, dass nicht überall, aber in manchen Fällen das Formol die Eigenschaft besitzt, nicht nur die Kornea, sondern auch die Linse und den Glaskörper transparent zu erhalten. So besitzt Verfasser eine Anzahl in Formol gehärteter Vogelaugen, bei denen die Linse (mit Ausnahme einer centralen wahrscheinlich schon postmortal eingetretenen Trübung) und der Glaskörper absolut wasserhell, transparent geblieben sind, so dass nach Anlegung von zwei gegenüberliegenden Fenstern eine tadellose Demonstration des Fächers ermöglicht ist. In solchen Fällen ist es natürlich behufs Orientirung nicht nöthig, den Bulbus vor der Fixirung zu zerlegen.

Zum Zweck der Fixirung ist es überhaupt in keinem Falle erforderlich, den Bulbus aufzuschneiden. Selbst die Osmiumsäure ist durch ein besonderes Verfahren (s. unten) so rasch zum Eindringen zu bringen, wie es überhaupt nur im Interesse einer exakten, momentanen Fixation erwünschst ist.

Bei der Eigenart der anatomischen Verhältnisse des Augapfels giebt es kaum ein Fixationsmittel, das als ideales zu bezeichnen ist. Bald schrumpft der Glaskörper in dem Masse, dass regelmässig die Netzhaut abgelöst ist; oder die Linse wird zu hart, oder sie platzt; andere Fixationsmittel, z. B. die Müller'sche Lösung, lassen diese Nachtheile bei ihrer Anwendung vermissen, dafür muss aber die Entstehung fädiger Gerinnungen oder eine ungenügende Protoplasma- und Kernfixation in Kauf genommen werden. Es müssen deshalb je nach dem besonderen Zweck verschiedene Fixationsmittel verwandt werden.

Alkohol absolut. Ist als Fixationsmittel für das Auge wegen seiner mehr minder hochgradige Schrumpfung des Bulbus herbeiführenden Eigenschaft nur dann zu verwenden, wenn die Schrumpfung im Interesse besonderer Bakterienfärbungen (Tuberkel-Leprabacillen) vernachlässigt werden darf. Worauf die gerade am Auge auffallend hohe Schrumpfung bei Anwendung des Alkohols beruht, ist noch nicht hinlänglich klar.

Die bedeutende Schrumpfung des seines Wassergehaltes beraubten Glaskörpers hat wohl eine Netzhautablösung zur Folge; es brauchte aber deshalb, sobald das Deficit an Wasser durch Alkohol ersetzt ist, doch noch keine Einziehung der mit der abgelösten Netzhaut nur in beschränktem Grade verbundenen übrigen Bulbuswandungen einzutreten, ebenso wie wir im Leben bei einer Amotio retinae an sich durchaus noch keine Schrumpfung des Bulbus eintreten sehen, und bei auf Glaskörperschrumpfung beruhender Amotio eine Deformation des — nach Verminderung oder Aufhebung des Kapillarattraktionsvermögens des schwammigen Glaskörpergerüstes in seinem Volumen reducirten — Augapfels sich nur unter dem Einfluss der äusseren Augenmuskeln (Viereckigwerden des Bulbus) vollzieht.

Es giebt hiernach nur zwei Möglichkeiten:

1. entweder der Alkohol dringt — im Verhältniss zu der Diffusionsgeschwindigkeit des Wassers im Bulbus nach aussen — zu langsam ein; es wäre dann die Schrumpfung des Bulbus bei Alkoholfixation durch Anbringung eines Fensters zu vermeiden; die praktische Erfahrung lehrt, dass dieses Moment in erster Linie als das die Schrumpfung bedingende anzusehen ist,

2. oder es wirken bei der Schrumpfung des Bulbus durch Alkoholfixirung noch andere physikalische Momente mit:

a) die bei der Mischung von Wasser mit Alkohol als eigenartiges Phänomen auftretende Volumsverminderung,

b) die Bulbuswandung, exkl. Retina, schrumpft und faltet sich infolge der an ihr selbst stattfindenden Wasserentziehung selbständig, ebenso wie etwa eine Platte von frischem, nassem Holz an einen warmen Ofen gebracht, sich wirft; hiergegen schafft auch ein vorheriges Aufschneiden keine Abhilfe. Dieses Moment ist bei der Vornahme der Entwässerung insofern von Bedeutung, als mit Rücksicht hierauf die Entwässerung möglichst langsam stattfinden muss.

MÜLLER'sche Lösung ist trotz ihrer bedeutenden Nachtheile noch nicht zu entbehren. Näheres siehe unter Fixationsmittel.

ORTH'sche Mischung (Formol-MÜLLER) vereinigt auch bei der Anwendung auf das Auge die Vorzüge der MÜLLER'schen Lösung mit denen des Formols, wobei die Nachtheile der ersteren grösstentheils ausgeglichen werden.

TELLYESNICZKY's Gemisch ist als eine höchst zweckmässig zusammengesetzte Fixirflüssigkeit auch für das Auge sehr zu empfehlen.

Pikrinsublimatessigsäure hat den Nachtheil des Zeitverlustes, der durch die behufs Sublimatentfernung erforderliche Jodnachbehandlung bedingt wird. Kern- wie Protoplasmakonservirung sind nicht als ideal zu bezeichnen. Bei ihrer Anwendung platzt fast regelmässig die Linse auf. Dagegen hat sie den Vorzug, dass sie die Gewebe nicht spröde macht und eine Auswässerung unnöthig ist.

HERTWIG'sche Mischung (Pikrinessigsäure). Für embryonale Augen sehr zweckmässig, besonders dann, wenn es noch nicht zur Bildung von kollagenem Gewebe gekommen ist, das durch die Essigsäure zum Quellen gebracht werden könnte.

ZENKER'sche Lösung. Nach jeder Richtung für das Auge zu empfehlen.

Formol: ist nach des Verfassers Erfahrungen sicher eines der besten Fixationsmittel für das Auge; insbesondere hat die Färbbarkeit von Augenpräparaten, die Embryonen entstammen, die in der Berliner königlichen Universitäts-Frauenklinik unkontrolirbar lange Zeit in Formol gelegen hatten, nicht im geringsten gelitten; bei Färbung mit Eisenhämatoxylin ist die Darstellung der Netzhautelemente bei 6—7 Monate alten Embryonen mit einer sonst kaum beobachteten Schärfe und Exaktheit gelungen. Die aus der Ueberfixation konstruirten Vorwürfe dürften sich jedoch wohl mehr gegen den anatomischen Arbeiter wie gegen das Formol richten. Bezüglich des Verhaltens zur Linse hat Verfasser gefunden, dass Linsen von Mäusen und Ratten transparent bleiben. Ueber Vogellinsen siehe oben. Linsen erwachsener Ratten sind ausserordentlich fest gefügt und ungewöhnlich hart. Trotzdem hat Verfasser von ihnen nach Formolhärtung noch durchaus hinreichend feine (Celloidin-) Schnitte (15—20 μ) erhalten können. Die gegen das Formol gerichtete, auf der Tagesordnung stehende Animosität dürfte hiernach wohl weniger in den nachtheiligen Eigenschaften, wie in der Belästigung durch das Formaldehydgas ihre Ursache haben.

FLEMMING's Chromosmiumessigsäure, wie ganz besonders HERMANN's Gemisch sind — abgesehen von ihrer Eigenschaft, nur schwer einzudringen, ferner dass man bisweilen die Ueberschwärzung durch Bleichungsmittel wieder beseitigen muss, sowie dass ihrer ausgedehnten Anwendung durch

ihre Kostspieligkeit Grenzen gezogen sind —, wie für alle übrigen Organe, so auch für das Auge so vorzügliche Fixationsmittel, dass sie überall da, wo es sich um exakte Ermittlung der Lageverhältnisse der Zellen, der Protoplasma- und Kernstruktur handelt, zum mindesten in beschränktem Umfange zur Kontrole über die mit anderen Fixationsmethoden erhaltenen Resultate verwandt werden müssen.

Eine besondere Anwendungsform der Osmiumsäure stellt das Verfahren nach JOHNSON[20]) dar.

Der Bulbus wird in toto an einem Faden in ein seiner Grösse entsprechendes Reagenzglas, das am Boden 2%ige Osmiumsäure enthält, gebracht, das Glas zugekorkt und nun über der Flamme erwärmt, bis reichlich Dämpfe aufsteigen. Die Räucherung, bezw. Dämpfung wird fortgesetzt, bis der Bulbus geschwärzt ist. Dann wird derselbe in JOHNSON's Gemisch gebracht, für 2 Stunden: $2^1/_2$%ige Lösung von Kaliumbichromat 70, 2%ige Lösung von Osmiumsäure 10, 1%ige Lösung von Platinchlorid 15, Essig- oder Ameisensäure 5 Theile. Alsdann Einlegen in reine Kaliumbichromatlösung. Mittels dieses Verfahrens gelingt es, die Osmiumsäure auch ohne Eröffnung des Bulbus in kürzester Zeit in dem Masse zur Einwirkung zu bringen, dass eine tadellose Fixation der nicht abgelösten Retina resultirt.

CARNOY's Gemisch eignet sich nur für embryonale Augen mit geringer Ausbildung des Glaskörperraumes. In allen übrigen Fällen bedingt der hohe Gehalt des Gemisches an absolutem Alkohol eine bedeutende Schrumpfung des Augapfels.

Vor dem Entwässern ist der Bulbus aufzuschneiden, und kann von dieser Regel nur bei embryonalen Augen abgegangen werden, und zwar nur bei solchen, in denen der Glaskörper noch kein erheblicheres Volumen erlangt hat. Augen von 1—2 Tagen alten Mäusen oder Ratten brauchen beispielsweise noch nicht aufgeschnitten zu werden, doch ändert sich diese günstige Situation schon nach wenigen Tagen.

Je geringer der Koncentrationsgrad des Alkohols ist, mit dem begonnen wird, und je langsamer man mit der Koncentration ansteigt, umsomehr wird die Schrumpfung vermieden.

Verfasser stimmt GREEF vollständig darin bei, dass man sich das Einlegen in Aetheralkohol schenken kann, und dass es im Interese einer das Punctum saliens der Celloidineinbettung darstellenden möglichst absoluten Entwässerung viel zweckmässiger ist, den gewonnenen Tag zu einem nochmaligen Einlegen in absoluten Alkohol zu verwenden. Für die Art des Aufschneidens hat GREEF[40]) sehr zweckmässige, als praktisch durchaus einleuchtende Anleitungen gegeben, die hauptsächlich dahin gehen, dass:

1. bei dem Durchtrennen in meridionaler Richtung der Bulbus nicht halbirt werden soll, sondern dass seitliche, der Sagittal- oder Horizontalebene parallele Kalotten abgetragen werden sollen, um den natürlichen Zusammenhang der besonders wichtigen centralen Theile zu wahren.

2. Dass von den abgetrennten Kalotten mit auf die Basis derselben senkrecht geführten Schnitten Stücke abgetragen werden, die es ermöglichen, die Kalotten so aufzukleben, dass die Mikrotomschnittebene zur Kalottenbasis nicht parallel, sondern senkrecht steht. Der hierdurch ermöglichte Wechsel in der Schnittrichtung ist zweifellos sehr vortheilhaft, doch lässt sich derselbe Zweck ohne weitere Abtragungen an den Kalotten wohl auch dadurch erreichen, dass man später den Celloidinblock in der entsprechenden Weise zuschneidet.

Ueber die Behandlung mit einem Vorharz bei Paraffineinbettung siehe pag. 1069.

Bei dem ungleichen Gefüge im Aufbau des Auges, der Zusammensetzung aus Geweben der verschiedenartigsten Konsistenz, dem Reichthum an derber, kollagener Substanz, die bei der Paraffinbehandlung stark schrumpft und brüchig wird, ist die Celloidineinbettung als das »normale« Verfahren bei der Untersuchung des Auges im Gegensatz zu der Untersuchung anderer Organe (cfr. LEE und MAYER, pag. 72) zu bezeichnen. Bei der Grösse der gewöhnlichen Objekte (menschlicher Bulbus) kann man auch bei der Paraffineinbettung keine feineren Schnitte erhalten, wie sie bei der Celloidineinbettung, wenn sie gut ist, zu erhalten sind. Bei der Wichtigkeit des Celloidinverfahrens speciell[43]) für das Auge seien einige Punkte noch ganz besonders hervorgehoben:

1. Ein guter Block muss hornartig, transparent sein.

2. Das frisch gekaufte, wie das bereits gebrauchte (abgeschnittene) Celloidin muss vor der weiteren Verwendung unter allen Umständen zerkleinert und getrocknet werden, bis die Stücke hart und transparent wie die Stücke einer Leimtafel geworden sind.

3. Vor dem Einbringen des Blockes in Alkohol ist es erforderlich, ihn solange an der Luft abdunsten zu lassen, bis annähernd die erforderliche Härte erreicht ist. Bringt man ihn früher in Alkohol, so ist eine genügende Härtung auch durch die sogenannten Härtungsmittel (Glycerin, schwacher Alkohol, Formol, Chloroformdämpfe) nicht zu erzielen.

4. Es ist nicht nothwendig, drei verschiedene Lösungen zu verwenden, und überhaupt fraglich, ob die in einem Präparat bereits vorhandene dünne Lösung durch die dickeren in absehbarer Zeit verdrängt wird. Es genügt vollkommen, eine einzige mitteldicke Lösung zu verwenden, wie es an der hiesigen königl. Universitätsaugenklinik üblich ist; nur muss man dafür Sorge tragen, dass die Abdunstung des Aethers noch langsamer wie üblich stattfindet, damit die oberen Schichten nicht hart werden, bevor der Aether aus den tieferen in genügendem Masse entwichen ist.

5. Das Schnelleinbettungsverfahren nach GILSON[22]) ist kein technischer Fortschritt. Bei dem GILSON'schen Verfahren ist es sehr störend, stundenlang dabei stehen zu müssen, — ein sich Selbstüberlassen ist bei der Gefahr des Ueberkochens unstatthaft —, bis die dünne Lösung auf $^1/_3$ ihres Volumens eingedickt ist. So sehr die Methode der Schnelleinbettung auch auf einem technisch durchaus richtigen Gedanken beruht, so bietet sie doch keine Vortheile vor dem bisherigen Verfahren.

6. Dagegen ist es ausserordentlich wichtig, die Luft aus dem in Celloidin eingebrachten Präparat mit einer Wasserluftpumpe — langsam! — abzusaugen. Es ist für den Nichtkenner geradezu unglaublich, wieviel Luftblasen dann noch aus einem anscheinend luftfreien Präparat entweichen. Es gilt das besonders für den mit so vielen und grossen Hohlräumen ausgestatteten Bulbus.

Ueber dem Celloidinverfahren ist natürlich die Paraffineinbettungsmethode nicht zu vernachlässigen. Es giebt keine Methode, mit der man rascher und exakter arbeiten und bei Objekten unter 1 Cm. Durchmesser so feine Schnitte erhalten kann, wie bei der Paraffineinbettung. Es gilt das besonders für die Verarbeitung einzelner Abschnitte des Bulbus oder seiner Wandungen und sodann für embryonale Augen, bei denen Augapfel und Adnexe noch aus weicher, protoplasmatischer Substanz bestehen, und eine reichlichere Entwicklung kollagenen Gewebes noch nicht stattgefunden hat. So sind z. B. Augen von menschlichen, 4 Monate alten Embryonen mit der Linse noch in lückenlose Paraffinserieneinschnitte von 5—7 μ Dicke zu zerlegen. Eine weitere, durchaus zweckmässige Ausdehnung des Paraffinverfahrens gestattet die Methode der vorherigen Durchtränkung mit recht dünner Celloidinlösung (kombinirte Einbettung).

Um die Retina bei der Paraffineinbettung möglichst in ihrer natürlichen Lage zu erhalten, verfährt Verfasser in der Weise, dass der fixirte und gehärtete Bulbus nach Abtragung der Hornhaut, Entfernung der Iris und Linse zunächst einmal vorläufig in Paraffin eingebettet wird, dann das Paraffin an der hinteren Fläche des Bulbus abgeschabt wird, darauf die Sklera abpräparirt, beziehungsweise mit der Pincette in zusammenhängenden Lamellen abgezogen wird, eventuell auch noch die Chorioidea abgeschabt wird, und dann das Präparat noch einmal eingebettet wird (Eintauchen in absoluten Alkohol, Einbringen auf einer Platte in den Paraffinofen, Erwärmen, bis das im Präparat enthaltene Paraffin eben oberflächlich zu schmelzen anfängt, Einbettungsrahmen herumlegen und zum zweiten Mal definitiv mit flüssigem Paraffin übergiessen. In gleich schonender Weise kann die Iris ohne Läsion durch die sonst bei Herausnahme erforderlichen Manipulationen eingebettet werden, indem nach der ersten Einbettung die schwer schneidbare Sklera abpräparirt, beziehungsweise abgezogen und das Präparat dann noch einmal eingebettet wird.

Als allgemeine Uebersichtsfärbungen kommen Färbungen mit einfachen Kernfärbungen (Hämatoxylin, Karmin, Alaunkarmin), oder Doppel- und Mehrfachfärbungen mit Hämatoxylin-Eosin, nach VAN GIESON, beziehungsweise mit Eisenhämatoxylin als die hauptsächlichsten in Betracht. Zur Färbung von Paraffinschnitten, besonders von Embryonenaugen sei auch besonders wegen ihrer wundervollen, distinkten und eleganten Farbeneffekte die BENDA'sche Safranin-Lichtgrünfärbung empfohlen. Verf. verfährt dabei folgendermassen:

1. Färbung der mit Eiweissglycerin aufgeklebten Schnitte in Anilinwassersafranin (BABES) einige Minuten.

2. Leichtes Abspülen in Wasser.

3. Färben in wässeriger $^1/_2$ $^0/_0$iger Lichtgrünlösung $^1/_2$ Minute.

4. Entfernung des überschüssigen Lichtgrün in Alkohol 75 $^0/_0$, bis keine Farbenwolken mehr abgehen.

5. Zurückbringen in Safranin zur definitiven Kernfärbung (bei 1 handelte es sich nur darum, die Kerne vor dem Eindringen des sonst gar nicht wieder herauszuschaffenden Lichtgrüns zu schützen).

6. Dosirung der Safraninfärbung (regressive Färbung) der Kerne durch längeres oder kürzeres Einbringen der Präparate in Alkohol 90 $^0/_0$, absol., Xylol, Balsam.

Ueber die Darstellung der einzelnen geweblichen Komponenten normaler oder pathologischer Beschaffenheit siehe I, *A* und *B*.

IV. Cornea. *A*. Den klarsten Einblick in die Verhältnisse der Saftlücken zu den fixen Hornhautzellen, wie zu den Wanderzellen erhält man nach WALDEYER [23]) durch Untersuchung der frischen Cornea (Frosch, Mensch) im Kammerwasser; RANVIER [24]) empfiehlt zu diesem Zweck, die Hornhaut eines eben getödteten Frosches mit dem Staarmesser abzutrennen, sie auf dem Deckglas in einen Tropfen Humor aqueus zu bringen, den man vorher mit einem Kapillarröhrchen gesammelt hat. Nach Entfernung von anhaftendem Pigment oder Irisgewebsfragmenten mit einem feinen Marderhaarpinsel wird die Hornhaut mit der Hinterfläche auf dem Deckglas ausgebreitet, das mit der Pincette gefasste Deckglas über die von ENGELMANN empfohlene feuchte Kammer ohne centrale Scheibe gebracht und der Rand mit Paraffin umsäumt.

Durch Imbibition der Fibrillenbündel mit Kammerwasser, während die Hornhautzellen, solange sie am Leben bleiben, davon freibleiben, kommt eine Differenz im Brechungsvermögen im Laufe einer Stunde zustande, die es zur Folge hat, dass die Zellen mit ihren Fortsätzen, aber ohne Kerne, in scharfer Zeichnung sichtbar werden. Die Kerne erscheinen erst nach dem Ableben der Zellen. Die Lebenserscheinungen der Zellen sind nun unter dem Einfluss verschiedener Temperaturen (heizbarer Objekttisch), der Einwirkung von Gasen (Gaskammer in Gestalt eines hohlen Objektträgers) oder Reagentien, oder elektrischen Ströme zu studiren. Da gegen die von RECKLINGHAUSEN-WALDEYER'sche Anschauung, dass in den sogenannten Saftlücken ausser den fixen Zellen noch ein für die Cirkulation der Lymphe und ihrer Zellen bestimmter Raum vorhanden ist und demnach Hornhautzellen und sogenannte Hornhautkörperchen nicht zu identificiren sind, von der Gegenpartei (KÜHNE und ENGELMANN) der Einwand erhoben wird, dass die Resultate der ersteren nur dann zu erzielen seien, wenn die Hornhautzellen bereits geschrumpft seien und dieselben sich deshalb von einem Theil der Wandungen zurückgezogen hatten, sind ausser der oben beschriebenen Methode der Beobachtung am überlebenden Objekt zur Feststellung der wirklichen Sachlage noch andere Methoden, durch welche überlebend fixirte Zellen zur Beobachtung gelangen, erforderlich.

Versilberung siehe Silbermethode.

Vergoldung, Methoden, siehe unter Goldmethoden.

Imprägnation mit Berlinerblau (Leber). Negative Bilder: Eine frische Hornhaut wird ganz oder theilweise in eine 1%ige Lösung eines Ferrosalzes (Ferr. sulf.) gebracht, kurz darauf vom Epithel befreit, wieder in die Eisenlösung (zusammen auf 5 Minuten) zurückgelegt, kurz abgespült und bis zur intensiven Blaufärbung unter Schwenken in eine 1%ige Lösung von Ferricyankalium gebracht, Kernfärbung mit Karmin oder Safranin. Waldeyer hat mit denselben Reagentien die Saftlücken imprägnirt.[25])

Injektionsmethoden. Die durch Injektion erhaltenen Figuren (Bowman's Corneal-Tubes) sind theilweise als innerhalb der Fibrillenbündel entstandene (Rollet'sche) Sprenglücken aufzufassen (nach Ranvier gilt das für alle).

Die Injektion erfolgt am besten mit öligen, mit Wasser sich nicht mischenden Substanzen (mit Alkanna roth gefärbtes Terpentinöl, Extrakt der Anakardiumnüsse [Waldeyer], oder mit Olivenöl [Altmann]).

In letzterem Falle sind durch anschliessende Osmirung, Anfertigung von Gefrierschnitten und Behandlung der letzteren mit Labaraque'scher Flüssigkeit Korrosionspräparate zu erhalten. Ebensolche gewinnt man nach Altmann[26]), wenn man statt die Cornea mit Oel zu injiciren, dieselbe mit einem Gemisch von Ol. Ricini (2 Theile) und Alkohol absol. (1 Theil) durchtränkt.

Isolirung. Die Isolirungsversuche der Hornhautzellen haben eine gewisse Bedeutung erlangt dadurch, dass es His und Leber durch Maceration mit starker Schwefelsäure gelungen ist. die Hornhautkörperchen, d. h. die mit einer Wandung aus kollagener Substanz umgebenen Saftlücken sammt ihrem Inhalt (Hornhautzellen und eventuell Wanderzellen) zu isoliren, was Waldeyer auf Grund des analogen Verhaltens der sog. Knochenkörperchen und der Zahnbeinröhren (E. Neumann) damit erklärt, dass auch die Saftlücken der Hornhaut von einer Wandung umgeben sind, die im Gegensatz zu ihrer peripheren Umgebung stärker verdichtet und besonders resistent geworden ist, so dass diese Wandung nach Auflösung der kollagenen Grundsubstanz noch erhalten bleibt.

Zur Darstellung der isolirten Elemente empfiehlt Ranvier Fixirung der Cornea in 1%iger Osmiumsäure, 24 Stunden lang, Auswaschen, Färbung 24 Stunden in reinem Pikrokarmin, Lamelliren und Zerzupfen, Zusatz von Glycerin mit 1% Ameisensäure (oder Zerzupfen der in Osmiumsäure gehärteten Hornhaut auf dem Objektträger, Abspülen, Zusatz von Pikrokarmin, Deckglas, an den Rand einen Tropfen ameisensaures Glycerin).

Bei diesem Verfahren gelingt es auch, die sog. Suturalfasern, die sich im Gegensatz zu dem kollagenen Gewebe mit Karmin roth färben, darzustellen. Zur Maceration der Cornealgrundsubstanz kann statt der Schwefelsäure (s. oben) auch Salpetersäure (20%) oder koncentrirte Salpetersäure (mit Zusatz von etwas Glycerin) benutzt werden. Einlegen auf 24 Stunden, Isolirung in Wasser.

Rollett bediente sich zu demselben Zwecke des Kal. permanganic. oder eines Gemenges einer Kal. permang.-Lösung mit einer Alaunlösung. Das mit Kal. permanganic. behandelte Gewebe giebt keine sog. Xanthoproteïnsäurereaktion.[27])

Zur Untersuchung des Pflasterepithels der Cornea siehe die unter I*A* angegebenen Methoden. Zur Untersuchung empfiehlt sich besonders das Epithel vom Rinde, wo es im Verhältniss zum menschlichen Epithel recht hoch und vielgeschichtet erscheint.

Bowman'sche Membran: Zerfaserung zusammen mit den vorderen Hornhautschichten lässt den Zusammenhang der Grundsubstanz mit Bowman's Membran erkennen, Zerlegen in Fibrillen mit Kal. permang. (0,5%), allein oder mit Alaun. Zur Unterscheidung von den Glashäuten: Einlegen der Cornea in Osmiumsäure 24 Stunden, dann in Alkohol absol. 24 Stunden, Kochen, Verdauung mit Trypsin; die kollagene Substanz wird gelöst.

Membrana Descemeti: Hassal'sche Warzen (Hyalinreaktion); Zerfall in Henle'sche Plättchen durch Kochen. Isolirung der Membran:

mechanisch, am leichtesten beim Frosch, durch schichtenweises Abtragen der Hornhautgrundsubstanz; durch Einlegen der Hornhaut in angesäuertes Wasser und Erwärmung auf 35—40° (KÜHNE, Ueberführung der kollagenen Substanz in Leimlösung), in 10%ige Kochsalzlösung (SCHWEIGGER-SEIDEL). Leicht gelingt nach ROLLETT die Ablösung der Membrana Descemeti von der Hornhaut nach Behandlung mit Kal. permang.[27]) Zerlegung in Lamellen durch Kochen, Einlegen in Jodserum, 10%ige Kochsalzlösung.

Endothelbelag der Membrana Descemeti: Untersuchung der amöboiden Bewegungen der Endothelzellen an der frischen Froschcornea nach KLEBS[28]), des Auseinanderweichens und Sichwiederzusammenschliessens der Endothelzellen an der Cornea des Kalbes nach Aufträufeln von physiologischer Kochsalzlösung (0,85—0,9%) nach PREISS.[29]) Spindel- oder sternförmige Form der Zellen in den Thälern zwischen den hyalinen Warzen in der Flächenansicht erkennbar.

Isolirung des Belages nach Fixation in Osmiumsäure oder Silbernitratlösung, Versilberung der Kittleisten nach RANVIER's Verfahren.

Der LEBER'sche, bezw. SCHLEMM'sche Venenplexus ist sowohl von den Venen, wie von den Arterien (Art. ophthalmica) zu injiciren; auch direkt durch Einsetzen einer feinen Kanüle in das freigelegte Lumen einer grösseren Vene können der Ciliarkranz und die vorderen Ciliarvenen injicirt werden (mit Quecksilber oder gelösten Farbstoffen).

Die Injektion des Venenplexus von der vorderen Kammer ist nur möglich 1. wenn diffusionsfähige Farblösungen verwandt werden, 2. wenn die Farbstoffpartikel der Farblösung so klein sind, dass sie die Kittlinien der Zellen des Endothelbelages der inneren Wand des Venenplexus passiren können.

Färbung der elastischen Fasern, die die Grundlage des Lig. pectinatum bilden (LEBER, LAUBER[30]), nach WEIGERT siehe pag. 193 oder mit Orceïn siehe pag. 193.

Untersuchung der Hornhaut im polarisirten Licht zur Feststellung der doppelt brechenden Eigenschaft der fibrillären Substanz, sowie zum Nachweis des in der Hauptsache meridionalen Faserverlaufes.

B. Pathologische Histologie der Cornea.

1. Cirkulations- und Ernährungsstörungen:

Die bei Cirkulationsstörungen (Atrophie des Bulbus, Glaukom, Perivasculitis, des Randschlingennetzes, der Gefässe des Plexus venosus oder der Ciliargefässe) auftretenden Epitheldefekte an der vorderen oder an der hinteren Hornhautwand (E. v. HIPPEL[31]) sind an dem in situ befindlichen Auge bequem durch Einträufeln einer Fluoresceinlösung darzustellen.

Ueber den Nachweis der beim Arcus senilis bei der Pinguecula und beim Flügelfell auftretenden Einlagerungen von Hyalin siehe pag. 541. FUCHS[32]) empfiehlt zum Nachweise des Hyalins 1. die Prüfung des Verhaltens beim Zusatz von Säuren, Alkalien, Aether und Chloroform, 2. Färbung mit Alaunkarmin, wobei sich das Hyalin stärker färbt als die übrigen Gewebsbestandtheile mit Ausnahme der Kerne. 3. Färbung mit WEIGERT's Hämatoxylin (graubraun bis rothbraun). 4. Färbung mit WEIGERT's Gentianaviolett, wobei sich Hyalin im Gegensatz zum Amyloid gar nicht oder schwach blau färbt. 5. Färbung mit LUGOL'scher Lösung, Hyalin gelblich; nur bei vorgeschrittener hyaliner Degeneration findet in den grösseren Konkrementen und den hyalin verdickten elastischen Fasern mahagoniartige Braunfärbung statt, ein Verhalten, welches den Uebergang in Amyloid andeutet.

Nach FUCHS muss man ausser den feinen hyalinen Körnchen und den grösseren, durch Agglutination aus den letzteren entstandenen Konkrementen noch eine dritte Art von Hyalinbildung an den Fibrillen des konjunktivalen Hyalin unterscheiden, die darin zum Ausdruck kommt, dass die Fibrillen im ganzen, ohne ihre Selbständigkeit zu verlieren und ohne

dass die Bindegewebszellen zugrunde gehen, hyalin entarten (Entstehung von Gebilden von dem Aussehen von Darmkonvoluten).

Das Hyalin im Epithel ist nach Fuchs von dem Bindegewebe aus eingewandert. Besonders charakteristisch ist nach E. v. Hippel[33]) — siehe auch v. Michel[34]) —, für beginnende bandförmige Keratitis das Auftreten von Kalkkörnchen in den Kittleisten des Epithels, in den vorderen Schichten der Grundsubstanz, ganz besonders aber in der Bowman'schen Membran. Färbung mit Hämatoxylin tiefdunkelblau. Ueber den Nachweis von Fibrin (Durchblutung der Hornhaut, Entzündung), das in mehr weniger feinen Fäden, in Knötchen aus dicken Fäden bestehend, in Gestalt kurzer Stäbchen auftritt (siehe unter Fibrin). Leber empfiehlt besonders die Prüfung des Verhaltens auf Pikrinsäure-Eosin, ferner Behandlung mit Schwefelsäure, Auswaschen und Färbung durch Jod (braun).

2. Entzündung: Die Cornea ist dank ihrem Bau von jeher das Lieblingsobjekt zum Studium der entzündlichen Veränderungen gewesen. Die hauptsächlichsten, grundlegenden Kenntnisse über die Entstehung der Entzündung und die Wirkung der entzündungserregenden Schädlichkeiten verdankt daher auch die moderne Medicin einem Ophthalmologen.[35]) Um sich über die wichtigsten charakteristischen Veränderungen eine Anschauung zu verschaffen, kann man nach dem Vorgange von Leber durch Impfung der Hornhaut oder durch Anlegung einer Tasche in der Hornhautsubstanz mit einer Lanze das Hornhautgewebe der Einwirkung der verschiedensten infektiösen, rein chemisch oder mechanisch wirkenden Substanzen unterwerfen. Als Infektionsmaterial empfehlen sich besonders wegen der Grösse der Pilzelemente und der leichten Kontrolirbarkeit der Wachsthumsverhältnisse Kulturen von Aspergillus fumi atus, auf Fruchtsäften oder festen Nährböden gezüchtet.

Die anatomische Untersuchung erfolgt entweder frisch oder nach Vergoldung oder nach vorheriger Härtung, wofür Leber die Müller'sche Lösung am vortheilhaftesten fand. Anfertigung von Gefrierschnitten oder nach Einbettung in Celloidin oder Paraffin (Hess). Färbung der Kerne und Pilzelemente in Hämatoxylin oder Alaunkarmin.

Letztere werden durch Vergoldung rothviolett. Zur Untersuchung der streng radiär nach dem Infektionsherd gerichteten, amöboiden Bewegungen der Wanderzellen empfiehlt sich die Untersuchung der Meerschweinchencornea auf dem heizbaren Objekttisch. Ebenderselbe wird benutzt, um die lähmende Wirkung von Faulextrakten auf die amöboiden Bewegungen der Eiterkörperchen unter dem Mikroskop zu beobachten. Dass die Einwanderung vollkommen unabhängig von vitalen Vorgängen erfolgt, lässt sich erweisen dadurch, dass man todte Hornhäute von Schweinen reinigt, trocknet, in sterilisirter 0,75%iger Kochsalzlösung geschmeidig macht, nun mit Faulextrakt injicirt und in die Peritonealhöhle eines Kaninchens einführt. Man erhält dann an der todten Kornea dieselben typischen Veränderungen wie an der lebenden.

Um sich davon überzeugen zu können, dass die Eiterzellen bei intakter Hornhaut sämmtlich nicht in loco etwa durch Umwandlung aus den fixen Zellen entstanden, sondern vom Randnetz eingewandert sind, verfährt man nach Leber in der Weise, dass mit einer spitzen Kapillare am oberen Rande der Hornhaut eines Frosches ein Quecksilbertröpfchen in die Vorderkammer gebracht und gleichzeitig in den Rückenlymphsack eine Zinnoberaufschwemmung eingespritzt wird. Das Quecksilbertröpfchen senkt sich auf den Boden der Vorderkammer an die Hinterwand der Kornea und übt dort theils eine nekrotisirende, theils chemotaktische Wirkung aus. Um die nekrotisirte Stelle in der Hornhaut bildet sich ein typischer Infiltrationsring, der aus Eiterkörperchen gebildet ist, die sämmtlich mit Zinnober beladen sind. Nach Leber's Entdeckung besitzen die Eiterkörperchen ein histolytisches Enzym, auf dessen Wirkung *a)* die Einschmelzung der eitrig infiltrirten Gewebe, sowie *b)* die Verflüssigung der anfänglich fibrinösen Exsudation beruht. Um sich von diesen beiden Thatsachen zu überzeugen, injicirt man ad *a)* die Hornhaut eines Kaninchens mit sterilisirter, mit alkoholischer Anilinlösung gefärbter Staphylokokkenaufschwemmung vollständig; dieselbe wird herausgeschnitten, der nicht injicirte Randtheil entfernt, die Hornhaut mit 1%igem Sublimat, dann mit Kochsalzlösung abgewaschen, dann in verschlossener Glaswanne bei 38° langsam getrocknet und eventuell vor der Benutzung 1 Stunde lang auf 130° erhitzt, oder $^1/_2$ Stunde lang strömendem Dampfe ausgesetzt. Ein Stück der so behandelten Hornhaut, die also sterilisirte phlogogenetische Substanz enthält, wird einem zweiten Kaninchen in die Vorderkammer gebracht. Es entwickelt sich eine deutliche Iritis mit eitriger Exsudation und diffuser Cornealtrübung und das fremde Hornhautstück wird in eine blaue Eitermasse verwandelt. Da bei der Bildung derselben, wie auch noch die nachträgliche bakteriologische Untersuchung bestätigt, Mikrobien nicht betheiligt sind, die Gewebsflüssigkeit in keinem Zustande histolytische Eigenschaften besitzt, kann die eitrige Einschmelzung der fremden Hornhaut nur durch die Eiterkörperchen hervorgerufen sein. Wenn es auch durch Leber's Untersuchungen als erwiesen gelten kann, dass die Eiterzellen eingewandert, sowie dass sich weder aus diesen fixe Zellen, noch aus fixen Zellen Eiterkörperchen entwickeln, so bleibt von diesen Forschungsresultaten ganz unberührt die Thatsache, dass sich die fixen Zellen sowohl bei der Entzündung betheiligen, wie auch das Material für den Wiederaufbau des Gewebes liefern. Zum Studium der Veränderungen an den fixen Zellen empfiehlt sich nach Hertel[36]) Fixirung in Formol, Sublimat oder Flemming, Färbung mit Thionin, Behandlung mit Natr. biborac. oder Lithion carbonic. Differenzirung in Salmiak oder Seignettesalzlösung, Anfertigung von Flächenschnitten, Untersuchung bei Auerlicht behufs

besserer Unterscheidung der rosaviolett gefärbten plasmatischen Gebilde von der fast farblos erscheinenden Grundsubstanz. — Differentielle Diagnose zwischen den leukocytären Entzündungsspiessen und den aus den fixen Hornhautzellen hervorgehenden Regenerationsspiessen:

1. durch den grösseren Chromatinreichthum der leucocytären Elemente;
2. durch den Nachweis färbbarer Granula in den Zellleib der letzteren:
   a) Gefrierschnitte, $1/2$ Minute gefärbt in Ehrlich's Triacid.
   b) Formolhärtung, Färbung mit Hämatoxylin-Eosin (Schnaudigl). Die Kerne der Regenerationsspiesse sind blass, epitheloid, die Zellleiber frei von Granulationen.

Bei der Wucherung der Endothelschicht nach vorheriger Zerstörung derselben, wird neue glashäutige (Descemet-) Substanz gebildet, die sich von der alten durch eine scharfe Linie absetzt (Wagenmann, v. Hippel).

Auf den Hornhautnarben zeigt das Epithel bisweilen Verhornung, fettig oder kalkig veränderte Stellen; im Narbenbindegewebe hyaline Einlagerungen. Ueber den Nachweis von Hyalin etc. siehe pag. 541.

V. Sklera. Die Untersuchung der Sklera erfordert keine besonderen Methoden.

Die Darstellung der auch in ihr vorhandenen Lymphwege, deren Wandungen zum Theil endotheliale Bekleidung zeigen (v. Michel) erfolgt nach den bei der Cornea angegebenen Methoden. Die Darstellung der elastischen Fasern in dem Skleralgewebe mit den üblichen Nachweisungsmethoden für das Elastin, cfr. Sattler [37]).

Die elektive Färbung ergiebt einen grossen Reichthum an elastischen, meistens sehr feinen Fasern.

Ueber das Verfahren der provisorischen Paraffineinbettung behufs Ablösung der Sklera und isolirter Weiterverarbeitung der übrigen Augapfelhäute s. oben.

VI. Iris. Die Darstellung des Endothelhäutchens, — entwicklungsgeschichtlich dem Endothel der Membr. Descemeti und auf den Bündeln des Lig. pectinatum völlig gleichzustellen, das nach v. Michel besonders bei älteren Personen eine verschiedene Dicke zeigen und dadurch möglicherweise die Verschiedenheit der Atropinwirkung bedingen kann [38]) —, erfolgt nach Fuchs [39]) durch Aufträufeln einer 1%igen Silberlösung, Härtung in schwachem Alkohol, Auslösen der Iris, Abpinseln der Zellen der Pars iridica retinae, Entwässern, Einbettung in toto in Damarlack. Im übrigen erfolgt die Untersuchung der Iris nach v. Michel [57]) frisch oder an Präparaten, die 14 Tage in Müller'scher Lösung oder in Alkohol fixirt sind. Um das Präparat nach der Behandlung mit Müller's Lösung für Isolirungszwecke besonders brauchbar zu machen, empfiehlt sich nach dem Auswaschen und Färben in Karmin, Aufbewahrung in Glycerin, mindestens 8 Tage lang unter öfterem starken Umschütteln. Zur Entfernung des Pigments empfiehlt v. Michel mechanisches Abstreichen des Pigments mittelst eines Spatels oder einer Staarnadel von der in Aq. dest. ausgebreiteten Iris unter reichlichem Wechsel des Wassers, um ein Eindringen des Pigments in das Gewebe der Iris zu verhüten. Als recht zweckmässig empfiehlt ferner derselbe Autor die Injektion einer $1/4$%igen Osmiumsäure-Lösung in die vordere Kammer, Härtung in Alkohol und Färbung mit Hämatoxylin.

Als schonendste Methode zur Bleichung des Augenpigmentes gilt mit Recht das von Alfieri angegebene und besonders von Grunert zum Nachweis und Studium des Musc. dilatat. pupillae in Anwendung gezogene Verfahren.

Es handelt sich ja um die altbekannten Entfärbungsmittel, wie sie bei der Markscheidenfärbung nach Pal, bei der Bleichung überosmirter Präparate schon lange gebraucht werden. Das Neue liegt in der Anwendung auf das natürliche Augenpigment.

Grunert will die Methode auf Celloidinschnitte beschränkt wissen. Die Schnitte werden in Kal. permanganic-Lösung 1:3000 gebracht, bis sie intensiv braun geworden sind. Aus dieser kommen sie nach Abspülung in eine $1/3$%ige Oxalsäurelösung, wo sie nur solange verbleiben, bis die Braunfärbung der nicht pigmentirten Gewebe wieder verschwunden ist — die Oxalsäure ver-

wandelt das braune ungelöste, unter dem Einfluss des Kal. permang. entstandeno Oxydationsprodukt in eine lösliche, ausspülbare Leukoverbindung —; ist dann das Pigment an den pigmenthaltigen Stellen noch vorhanden, so hilft auch ein längeres Liegenlassen in der Oxalsäure nicht; die Schnitte werden dadurch nur unnütz macerirt; sie kommen deshalb nochmals in die Kal. pormang.-Lösung zurück und dann wieder in die Oxalsäure. Dieser Turnus wird solange wiederholt, bis das Pigment in dem gewünschten Grade entfernt ist. Wenn die Schnitte lange in Kal. permang. gelegen haben, dauert es relativ lange, bis sie unter dem Einfluss der Oxalsäure farblos werden. Dieser Process kann nun nach des Verf. Erfahrungen ganz wesentlich abgekürzt werden, wenn man der Oxalsäurelösung ebenso wie bei dem PAL-schen Bleichungsmittel in demselben Verhältniss Kal. oder Natr. sulfurosum zusetzt. Indem so ein rascher Turnus ermöglicht ist, können ganze Tage an der sonst zur Depigmentirung erforderlichen Zeit gespart werden.

Genau in derselben Weise können nach des Verfassers Erfahrungen mit Eiweissglycerin aufgeklebte Paraffinschnitte behandelt werden; dieselben werden, wenn sie gut aufgeklebt sind, nicht abgelöst (eine eiweisslösende Alkaliverbindung ist in den Reagentien ja nicht enthalten). Nur empfiehlt es sich, da die Schnitte nicht durch eine Celloidinschicht geschützt sind, die Lösungen bedeutend zu verdünnen, die Kal. permang.-Lösung auf $^1/_5$, die Sol. acid. oxal. und Natr. sulfuros. auf $^1/_{10}$, ferner den Einfluss der Reagentien unter dem Mikroskop zu kontrolliren und bei beginnender Maceration und noch ungenügender Bleichung die Lösungen noch weiter zu verdünnen. Allgomeine Regeln über den Grad der Verdünnung und die Dauer der Exposition können bei Paraffinschnitten nicht gegeben werden, da die Menge des Pigments nach der Dicke der Schnitte und der Entwicklung des Pigments verschieden ist.

Je mehr Pigment in Paraffinschnitten zu bleichen ist, desto mehr müssen die beiden Bleichungsreagentien verdünnt werden. Auch hierbei erweist sich der Zusatz von Natr. sulfuros. zweckmässig, indem dadurch jeder nicht unbedingt erforderliche Aufenthalt in der schon durch ihren Wassergehalt macerirend wirkenden Oxalsäurelösung vermieden wird.

Unter keinen Umständen ist es rathsam, feine Paraffinschnitte in den Reagentien sich selbst, etwa während der Nacht über, zu überlassen. Muss das Arbeiten unterbrochen werden, so empfiehlt es sich, die Objektträger mit den aufgeklebten Schnitten in eine Mischung von Aq. dest., Glycerin und Alkohol aa. hineinzustellen. Längerer Aufenthalt der entparaffinirten Schnitte in 70%igem Alkohol wirkt macerirend auf dieselben ein und beeinträchtigt die Färbung.

Es giebt ja noch eine grosse Zahl von Bleichungsmitteln (Chlor, schweflige Säure, Wasserstoffperoxyd, Chromsalpetersäure etc.), die besonders von Zoologen verwandt werden. Die Methode nach ALFIERI mit ihren Modifikationen ermöglicht jedoch ein so sicheres Arbeiten und giebt so gute Resultate, dass man wenigstens bei der Untersuchung menschlicher Augen auf diese mit gutem Recht sich beschränken kann.

Bekanntlich besitzen die Kapillaren der Iris eine perivaskuläre, endotheliale Scheide (v. MICHEL) im Gegensatz zu der Choriokapillaris (SCHWALBE). Ueber die Darstellung siehe Chorioidea. Die Darstellung der Irisnerven erfolgt nach den allgemeinen Methoden (Vergoldung, GOLGI's Silberimprägnation, EHRLICH und DOGIEL's Methode).

Die Fixirung der Iris mit Erhaltung des jeweiligen, vitalen Kontraktionszustandes der Irismuskulatur erfolgt nach HEINE am besten in FLEMMING-scher Lösung, bei 40° im Brutofen. Doch soll nach SATTLER (mündliche Mittheilung) auch hierdurch eine Myosis nur ausserordentlich schwer zu fixiren sein. HEERFORDT empfiehlt zu demselben Zweck die Injektion von Formol in das Auge.

Zur experimentellen Erzeugung von Iritis empfiehlt v. MICHEL die Injektion einer $^1/_4$ bis $^1/_2$%igen Silbernitratlösung in die vordere Kammer. Es sind natürlich auch sämmtliche von LEBER zu demselben Zwecke von der Hornhaut oder von der Vorderkammer aus benutzten Methoden in gleichem Masse verwendbar.

In keinem Fall ist die Untersuchung der bei einer Iridektomie excidirten Irisstücke zu unterlassen (v. MICHEL).

VII. Chorioidea und Ciliarkörper. Untersuchung der Glashaut, der Choriokapillaris, der ersten SATTLER'schen Endothelmembran und der darüber befindlichen inneren elastischen Faserschicht an Flächenpräparaten nach H. SATTLER[40]): Härtung frischer (nicht albinotischer) Augen in Alkohol oder besser in MÜLLER's Lösung, Ablösung der Chorioidea von der Sklera, Abpinseln des Pigmentepithels, Kernfärbung mit Hämatoxylin, Auflegen mit der Epithelfläche auf den Objektträger, Abziehen der Gefässschicht, sowie des pigmenthaltigen Gewebes, bis man auf pigmentfreies kommt. Untersuchung der verschiedenen Schichten durch verschiedene Einstellung des Tubus. Isolirung der glashäutigen Basalmembran fetzenweise durch Behandlung mit Kalilauge oder Schwefelsäure[41]); bisweilen gelingt es auch durch Abziehen mehrere Millimeter grosse Stückchen zu erhalten.[42]) Spaltung in eine innere dünne homogene und in eine an ihrer Aussenfläche mit gitterförmiger Zeichnung versehene Lamelle schon beim viermonatlichen Embryo möglich.[40]) Das über der Kapillarschicht befindliche Endothelhäutchen kann direkt isolirt werden durch Zerzupfen des in MÜLLER's Lösung macerirten Präparates an den Randtheilen desselben. Ueber SMIRNOWS Lamina elastica supracapillaris und das von SALTZMANN in den Interstitien der Choriokapillaris gefundene fibrilläre Bindegewebe vgl.[100])

Ebenso gelingt die Darstellung der Endothelzellgrenzen durch Versilberung. Um ein möglichst frisches Präparat behufs Versilberung zu gewinnen und dieserhalb möglichst rasch auf die gewünschte Schicht zu kommen, ist es hier ganz besonders wichtig, pigmenthaltige Augen zu verwenden.

Untersuchung der Venen, Arterien mit ihren Scheiden an Querschnitten.

Zum Studium des endothelialen Belages des sog. Perichoriodealraumes empfiehlt SCHWALBE[43]) albinotische Kaninchenaugen zu verwenden, das Retinalepithel abzupinseln, die Aderhaut von der Sklera abzuziehen, abzuspülen, in $^1/_4$%ige Sublimatlösung zu tauchen und mit der Innenfläche auf den Objektträger zu legen. Zur Isolirung des Endothelbelages hält es SCHWALBE für rathsam, lieber den skleralen Antheil desselben zu verwenden, am besten von einer Sklera, die nach der Silberimprägnation einen Tag in verdünnter Glycerinlösung gelegen hat.

Darstellung des zwischen den platten Pigmentzellen der Suprachorioidea und der inneren Endothelzellenlage des Perichoriodealraumes gelegenen elastischen Gewebes nach den allgemein üblichen Methoden, s. Elastin.

Zur isolirten Darstellung der Ciliarmuskulatur verfährt man am besten mit F. E. SCHULZE[54]) in folgender Weise:

1. Herstellung einer Lösung von Chlorpalladium 10:1000; hierzu 4—5 Tropfen koncentrirte Salzsäure. Auflösung in 24 Stunden. Diese dunkel rothbraune Lösung wird nach Bedarf verdünnt, für gewöhnlich auf 1:800 (weingelb).

2. Halbirung des Augapfels, Auspinseln des Glaskörpers, Eröffnung der hinteren Kapsel und Auslösung der Linse, Anlegung eines mässig grossen Loches in der Cornea.

3. Dieses Präparat wird auf 2—3 Tage (länger schadet nichts) in die Lösung von Palladiumchlorid (1:800) gelegt. Dasselbe erhält eine derbe Konsistenz, und können direkt ohne Einbettung genügend feine Schnitte mit dem Rasirmesser angefertigt werden. Gründliches, mehrstündiges Auswaschen der Schnitte in Wasser: Protoplasma dunkelgelb, quergestreifte Muskulatur bräunlichgelb, glatte hell strohgelb, Nerven schwarzgrau bis tiefschwarz, Kollagen absolut farblos. Letzteres kann mittelst einer mässig koncentrirten ammoniakalischen Karminlösung (mehrere Stunden lang) gegensätzlich gefärbt werden. Celloidineinbettung ist zulässig.

Auf welche Weise IWANOFF (JEROPHEEFF) seine wundervollen Flächenbilder von der hinteren Ausbreitung der Ciliarmuskulatur erhalten hat, ist leider nicht zu ermitteln.

Zur Darstellung des sog. Retikulum des Ciliarkörpers mit seiner mit den Jahren zunehmenden Verdickung und im Alter erfolgenden Einlagerung von Hyalin und Kalkkörnern empfiehlt H. MÜLLER[45]) einfaches Abziehen der Glashaut.

Zum Nachweis der Ablagerung von Kalkkörnchen, von Umwandlung im Knochengewebe, der fettigen und hyalinen Degeneration der Gefässe siehe die allgemeinen Methoden. Ganz besonders instruktiv und zur Demonstration der hyalinen Degeneration der Gefässwände geeignet sind, abgesehen von Querschnitten, Flächenpräparate von der Choriokapillaris (v. MICHEL[46]). Ueber die Herstellung der Flächenpräparate siehe oben SATTLER's Methode der Schichtenisolirung.

Ueber den Nachweis der Malariaplasmodien, deren Wirkung bisweilen die Verstopfung der Kapillaren mit Pigmentschollen zuzuschreiben ist, s. pag. 779 ff.

In den Tumoren des Uvealtraktus, wie auch bei vielen anderen geschwulstartigen und entzündlichen Processen am Auge, wird nach BEST[47]) oft ein bedeutender Gehalt an Glykogen gefunden. Der Nachweis wird am besten mittels der LANGHANS'schen Methode der Färbung mit LUGOL'scher Lösung (braunroth) geführt.

VIII. Linse und Strahlenbändchen. Linse. Fixation nach C. RABL[48]) am besten in Sublimat-Platinchlorid (koncentrirte wässerige Sublimatlösung, 1%ige Platinchloridlösung aa. 1, Aq. dest. 2), oder in Pikrinsublimat oder in FLEMMING's Chromosmiumessigsäure. Man verfährt dabei am zweckmässigsten in der Weise, dass der sorgfältig reinpräparirte Bulbus in toto auf ca. ½ Stunde in das Fixirgemisch gebracht, dann herausgenommen, im Aequator halbirt und auf 24 Stunden wieder in das Fixirbad zurückgebracht wird. Durchfärbung mit alkohol. Boraxkarmin.

Die Einbettung erfolgt in Paraffin oder in Celloidin. Linsen von Embryonen können, solange sie noch genügend weich sind, behufs Erzielung feiner Schnitte mit grossem Vortheil in Paraffin eingebettet werden.

C. RABL scheint sein ungeheueres Linsenmaterial zum grossen Theil in Paraffineinbettung verarbeitet zu haben. Derselbe findet bei der Paraffineinbettung, dass sich bisweilen in der Centralfaserschicht Luft in feinster Vertheilung einlagert.

Linsen, die mit Eintritt des Sklerosirungsprocesses ein ungleich hartes Gefüge erhalten haben, werden jedoch zweckmässiger in Celloidin eingebettet. Gerade hier ist jedoch zu erwägen, ob man nicht noch einen Mittelweg in Form der kombinirten Einbettung einschlagen kann. Es gelingt hierbei oft noch in Fällen, die bereits zur Celloidineinbettung verurtheilt schienen, mittelst der Celloidin-Paraffineinbettungsmethode recht feine Schnitte zu bekommen. Ueber die Miteinbettung der Sklera in Paraffin siehe oben unter Bulbus.

Hochgradig sklerosirte Linsen (besonders von alten Fischen, die bisweilen im Centrum geradezu steinartige Konsistenz haben) können natürlich in toto, ob man sie nun in Paraffin oder Celloidin einbettet, überhaupt nicht verarbeitet werden. Will man hierbei fatale Ueberraschungen beim Schneiden vermeiden, so muss der harte Kern vor dem Einbetten entfernt werden.

Ueber die Einbettungsmethode nach CALBERLA sind seit dem Erscheinen von BECKER's grossem Linsenwerk [49]) nähere Erfahrungen nicht bekannt geworden.

Ausser Meridionalschnitten kommen besonders zur Darstellung der Zusammensetzung aus radiären, nicht koncentrischen Faserlamellen Aequatorialschnitte in Betracht.

Der lamelläre Bau der Linsenkapsel lässt sich nach Behandlung mit Kal. permanganic. ($^1/_{10}$% mehrtägige Anwendung, SCHIRMER[50]), mit Kochsalz-

lösung 10%, Kalkwasser, 20% Salpetersäure (nicht mit Kalilauge) erkennen; die elegantesten Präparate erhält man jedoch mittelst der Verdauungsmethode (CHITTENDEN, SCHIRMER).

Die Kapselsubstanz steht dem Sarkolemm wohl nahe, indem beide, wie alle Glashäute durch Trypsin verdaut werden, wobei an der Linsenkapsel eine von innen nach aussen zu fortschreitende dichte und feine Streifung auftritt SCHIRMER[71]), unterscheidet sich jedoch vom Sarkolemm dadurch, dass, wenn beide zuerst mit Osmiumsäure (24 Stunden), dann mit Alkohol behandelt, darauf gekocht und schliesslich der Trypsinwirkung ausgesetzt werden, das Sarkolemm unverändert bleibt, während die Linsenkapsel doch allmählich aufgelöst wird (CHITTENDEN[51]).

Um das Epithel mit der Kapsel zu entfernen, kann man die Linse in Alkohol absol. zum Schrumpfen und nachher durch Einbringen in Wasser wieder zum Aufquellen bringen.

Dieses Verfahrens bediente sich C. RABL, sowohl um den Ringwulst abzuheben, wie um Präparate zu gewinnen, die in der Gegend der Epithelgrenze die Umordnung der ungeordnet liegenden Epithelzellen in meridional angeordnete erkennen zu lassen. Die fixirte und gefärbte Linse kommt in Alkohol, darauf in Wasser, und wird alsdann durch Eingehen mit einer Nadel das Epithel (oder der Ringwulst) abgehoben, oder mit der Pincette abgezogen.

Einigermassen brauchbare Präparate erhält man auch dadurch, dass bei den Kataraktextraktionen ein Theil der Vorderkapsel mit der Kapselpincette entfernt wird.

Linsenfasern: Zur Isolirung die üblichen Macerationsmittel. Darstellung der Linsenfasergrenzen an Schnitten, die mittelst der Gefriermethode gewonnen sind, durch Versilberung.

Studium der Lageverhältnisse der Central-, Uebergangs- und Hauptfasern an Aequatorialschnitten.

Um das Verhältniss des Ringwulstes zur übrigen Linsenfasermasse (den Index des Ringwulstes) zu ermitteln, schlägt RABL vor, den Schnitt auf Papier abzuzeichnen, die betreffenden Theile auszuschneiden und einzeln zu wägen.

Linsentrübung ist experimentell zu erzeugen.

1. Durch Abkühlung (v. MICHEL), beim Erwärmen verschwindend.
2. Durch Naphtalinvergiftung, Ergotinvergiftung (KORTNEFF[52]), Einlegen der Linse in Zuckerlösung.
3. Durch Erschütterung durch Schallwellen.
4. Durch Abtödtung des Kapselepithels durch elektrische Schläge.
5. Durch Koncentration von Sonnenlicht mit einer Sammellinse (HESS).
6. Durch Einwirkung von koncentrirtem elektrischen Bogenlicht (Verf.). Die Linsentrübung stellt sich auch dann ein, wenn die Wärmestrahlen durch zahlreiche, mit Alaunwasser gefüllte Wannen in dem Grade ferngehalten werden, dass ein direkt vor dem Auge aufgehängtes Thermometer mit berusster Kugel nicht höher wie auf 40° C steigt und ausserdem die Hornhaut mit physiologischer Kochsalzlösung berieselt wird.

Die Katarakterzeugung hiermit gelingt besonders leicht bei recht alten Kaninchen (in längstens 2 Stunden), während man bei jungen Kaninchen in der Regel vergebens auf den Eintritt der Linsentrübung wartet. Hat bei alten Kaninchen die Einwirkung des elektrischen Lichtes nur kürzere Zeit bestanden, so bildet sich die Linsentrübung nach einigen Tagen wieder zurück.

In den meisten Fällen ist eine Darstellung der Staarschicht, insbesondere auch in den Randpartien des Linsenkerns, durch Hämatoxylinfärbung zu erzielen.

Ueber den Nachweis von Kalk in überreifen Katarakten s. Verkalkung.

Das hierbei ebenfalls vorkommende Cholesterin wird erkannt durch Zusatz von Jod (Braunfärbung) und Zufügung einiger Tropfen 30—40%iger Schwefelsäure. (Durchlaufen der Farbentöne von Blauroth, Blaugrün, bis zu Reinblau). Lithion carbonic., das schon 30 Minuten nach der Fütterung (bei kataraktösen Linsen nach 2½—3 Stunden) in der Linse gefunden wird, erkennt man bekanntlich daran, dass eine Spur von der Linsenmasse, mittelst eines Platindrahtes in die Flamme des Bunsenbrenners gebracht, mit karminrother Farbe verbrennt; bei Anwesenheit von Natrium beobachtet man durch eine dünne Schicht Indigolösung.

2. Strahlenbändchen. Um sich von der Zonula auf rein präparatorischem Wege eine genauere Vorstellung zu verschaffen, fixirt man ein möglichst frisches Auge in toto in Formol (5%), oder Chromessigsäure (O. SCHULTZE[53]) — Chromsäure (0,5%), Essigsäure (0,1%), zu gleichen Theilen — halbirt den Bulbus im Aequator, entfernt den Glaskörper, löst Cornea und Sklera nach meridionalen Einschnitten von der vorderen Hälfte ab und schneidet die Iris am Ciliarrande ab.

Wenn man dann noch das Bändchen von hinten her mit der Scheere von den Ciliarfortsätzen abtrennt und aus dem so aus Linse und Zonula bestehenden Präparat einen feinen etwa 1 Mm. breiten meridionalen Sektor mit einem Skalpell herausschneidet, so erhält man eine leidliche Orientirung über die Anordnung der Zonulafasern an ihren Ansatzstellen am Linsenrande.

Ueber ihr Verhalten zu den Ciliarfortsätzen, ihren Verlauf hauptsächlich in den Ciliarthälern, ihren Ansatz kurz vor der Ora serrata, über das Eindringen der Fasern zwischen die Zellen der inneren Lage der Pars ciliaris retinae informirt man sich vollkommen ausreichend durch Anfertigung von Meridionalschnitten durch in oben beschriebener Weise hergestellten Präparate, an denen Linse und Zonula sich noch im Zusammenhang mit dem Strahlenkörper befinden.

Die Fasern der Zonula verhalten sich bei der Verdauungsmethode, sowie bei der Färbung mit Orceïn, Safranin, Viktoriablau, Jodviolett fast genau so wie elastische Fasern, nur mit dem Unterschiede, dass sie sich mit den genannten Farbstoffen in der Regel noch intensiver färben. Nach TOPOLANSKI lassen sie sich von den Fasern der Membrana hyaloidea dadurch unterscheiden, dass bei einer Färbung mit Säurefuchsin die Hyaloideafasern violett, die Zonulafasern intensiv roth färben. Ganz besonders wichtig ist aber das Verhalten der Zonulafasern insofern, als sie sich mittelst der WEIGERT'schen Neurogliamethode elektiv färben lassen. Die Fasern des Strahlenbändchens repräsentiren hiernach eine Uebergangsstufe zwischen Neuroglia und elastischem Gewebe (AGABABOW[54]).

IX. Glaskörper. Um sich von der Gegenwart fester Substanz im frischen Glaskörper eine sichere Ueberzeugung zu verschaffen, presst man nach H. VIRCHOW[55]) frischen Ochsenglaskörper durch Verbandmull durch. Es läuft eine dünne Flüssigkeit, keine Gallerte, ab, die in dem aus Fasern zusammengesetzten Gefüge des Glaskörpers enthalten war. Anstellung einer Belastungsprobe des faserigen Rückstandes — nach Ausschluss der Glaskörperhaut —, um eine Vorstellung von der relativ sehr bedeutenden Festigkeit desselben zu gewinnen.

Um den Aufbau des Fasergerüstes möglichst unverändert zur Anschauung zu bringen, ist jede Eröffnung des Bulbus beim Einlegen in die Fixirungsflüssigkeit unbedingt zu unterlassen, indem der an der Stelle der Eröffnung seiner Stütze beraubte Glaskörper sich nach der entgegengesetzten Seite zurückzieht. Auch nach der Fixirung ist es bei dem Einbetten in Celloidin ausserordentlich schwierig, jede Ablösung und dadurch verursachte Abänderung des natürlichen Gefüges zu vermeiden.

Darstellung des koncentrisch geschichteten Baues etwa derart, wie wir ihn vergleichsweise bei jedem hart gekochten Hühnerei am Dotter desselben finden:

1. Durch die Gefriermethode (BRÜCKE), Einlegen des Bulbus in eine Gefriermischung, Herausschälen des Glaskörpers, Abblättern von Eisscheibchen.

2. Aufträufeln von Farblösungen (Berlinerblau, Karmin) auf die Schnittfläche des Glaskörpers (STILLING).

3. Härtung in dünner MÜLLER'scher Lösung (IWANOFF).

4. Härtung in dünner Chromsäurelösung (HANNOVER) mindestens ein halbes Jahr, besser aber 6—7 Jahre lang (citirt nach H. VIRCHOW).

Der von STILLING entdeckte Centralkanal, der insofern kein Kanal ist, als er einer zelligen oder häutigen Auskleidung entbehrt, eine Abgrenzung vielmehr nur dadurch zustande kommt, dass an der betreffenden Stelle das faserige Gewebe verdichtet ist (HÄNSSEL[56]), ist nachzuweisen:

1. Durch Aufträufeln einer Farblösung auf die der Papilla n. opt. entsprechende Stelle eines herauspräparirten Glaskörpers (STILLING).

2. Durch Einspritzen von gelöstem Berliner Blau oder Alkannin-Terpentin unter die Pialscheide des Sehnerven (SCHWALBE).

3. Durch Einstichinjektion in die vordere Kammer (v. MICHEL).

Aus der hinteren Augenkammer strömt die Flüssigkeit nicht nur nach vorn, sondern auch nach hinten zu, um den Linsenrand herum, nach dem Centralkanal ab.

Dass es eine Membrana hyaloidea giebt, ist jedem Mediciner, der nur einmal eine präretinale, zwischen Netzhaut und Glaskörper abgesackte Blutung beobachtet und deren Ausgang hat verfolgen können, ohne weiteres klar.

Ebenso ist es bisweilen am lebenden Auge möglich, durch flächenhafte Ausbreitung von aus Netzhauthämorrhagien stammendem Blut im Innern des Glaskörpers sich von einer Spaltbarkeit desselben zu überzeugen (Verf.).

Die Frage nach der histogenetischen Natur der Glaskörperhaut des erwachsenen Menschen hängt auf das engste zusammen mit der Frage der Entwicklung der Glaskörperfasern und der Zonulafasern. Eine erfolgreiche Beobachtung der in Betracht kommenden Verhältnisse, ohne Verwirrung durch die temporär stattfindende Bindegewebsbildung behufs Produktion von Glaskörper- und Netzhautgefässen, ist nur am Vogelauge möglich, das weder Netzhautgefässe, noch Linsenkapsel-, noch Glaskörperhautgefässe besitzt (KESSLER, H. VIRCHOW).

Die Fixirung erfolgt nach G. RETZIUS[57]) am besten in Kal. bichromat. (3%) oder in FLEMMING'scher Lösung, oder in Sublimatlösung (1—2%); die Glaskörperfasern färben sich am besten mit Anilinfarben; zu brauchen sind jedoch, wenn man nicht in Paraffin einbettet — Embryonen —, nur solche Farben, die das Celloidin nicht mitfärben. Als besonders geeignet hat RETZIUS hierfür das Rubin gefunden.

Ob die Glaskörperfasern mit den Zonulafasern gleichzustellen und demnach als ein Gebilde ektodermalen Ursprungs aufzufassen sind (TORNOTOLA[58]), ist noch nicht entschieden. Jedenfalls geht aus der Abbildung von AGABABOW hervor, dass derselbe mit der WEIGERT-schen Neurogliafärbung nur die Zonulafasern, nicht aber auch Glaskörperfasern gefärbt erhalten hat. Die erste Entwicklung des Glaskörpers, und zwar ohne Betheiligung des Mesoderms ist nach C. RABL[101]) an Embryonen von Pristiurus melanostomus zu beobachten (Technik s. unter Linse).

X. Retina. Untersuchung in situ nach dem Aufschneiden des Bulbus, um sich von dem Vorhandensein des Stäbchenpurpurs und dessen Ausbleichen unter dem Einfluss der Belichtung zu überzeugen, ferner um die Elasticitätsverhältnisse in der Retina kennen zu lernen. An der Froschretina sieht man nach dem Durchneiden des Bulbus den Schnittrand Falten bilden. Diese Faltenbildungen beschränken sich jedoch auf die Schichten bis zur Membrana limitans externa, von innen gerechnet, während die Stäbchenzapfenschicht glatt dem Pigmentepithel anliegend bleibt. Diese Faltung beruht darauf, dass die inneren Netzhautschichten in höherem Masse elastisch sind und die Stäbchen- und Zapfenschicht in radiärer Richtung sehr dehnbar ist (KÜHNE[59]).

Die Faltenbildung ist stärker im Dunkel- wie im Hellauge, so dass man sich hierdurch auf den ersten Blick darüber informiren kann, welcher Zustand in der Pigmentepithel-Stäbchenzapfenlage vorliegt. Es ist das insofern wichtig, als die Ablösung der Retina von ihrer Unterlage sich weit schwieriger gestaltet, wenn es sich um ein sogenanntes Hellauge handelt, während beim Dunkelauge die Stäbchenzapfenschicht leicht aus den Pigmentepithelhülsen herausschlüpft. Die Schwierigkeit ist nicht gegeben durch das Vorrücken des krystallinischen Pigments in die Fortsätze, denn sie ist auch an den Stellen vorhanden, wo ein Vorrücken der Pigmentkörnchen bei der Belichtung nicht stattfindet (dunkler Theil der Fischretina).

Die artificielle Ablösung der frischen Retina behufs alleiniger Weiteruntersuchung, oder um nach ihrer Ablösung Theile des Pigmentepithels isoliren zu können, findet im ersten Falle zu den verschiedensten Zwecken statt (Herstellung von Flächenpräparaten, Isolirung der Nervenfaserschicht, Behandlung nach GOLGI-CAJAL oder EHRLICH-DOGIEL, Beobachtung und Photographie des Mosaiks der Stäbchenzapfenschicht etc. s. u.). Man geht dabei am zweckmässigsten in der Weise vor, dass man entweder vorher

am uneröffneten Bulbus den Sehnerven von aussen herauspräparirt, oder nach Eröffnung des Augapfels, vorsichtiger Entfernung des Glaskörpers (unter physiologischer Kochsalzlösung) die Papille mittels eines Locheisens mit nicht allzuscharfem Rande auf einer Bleiplatte ausstanzt (Kühne).

Alsdann macht man 3—4 radiäre Einschnitte in gleichem Abstande und von solcher Länge, dass es gelingt, den hinteren Augapfelabschnitt einigermassen flach anszubreiten, dreht das Präparat auf die andere Seite, so dass die Innenfläche der Retina auf den Objektträger zu liegen kommt, setzt dann die radiären Einschnitte durch die Sklera allein bis zum Sehnervenloch fort und löst Sklera und Chorioidea ab. Die Weiterbehandlung richtet sich nach dem speciellen Zweck der Untersuchung (s. u.).

Besteht die Absicht, nur einzelne bestimmte Bezirke zu untersuchen, die daselbst vorhandenen Elemente zu isoliren, ein Zupfpräparat anzufertigen, so kann man sich diese immerhin delikate Schichtenpräparation ersparen und das betreffende Stück direkt mit Pincette und Scheere heraustrennen. Um das Gewebe jedoch für diesen Zweck etwas wiederstandsfähiger zu machen und es gleichzeitig für die Zerzupfung geeignet zu machen, empfiehlt es sich, vor dieser Heraustrennung das hintere Augapfelsegment der Behandlung mit Härtungs-, bezw. Macerationsflüssigkeiten zu unterwerfen. Als solche kommen in Betracht:

1. Vor allem die Osmiumsäure *a)* nach M. Schultze: Fixation 24 Stunden in $^{1}/_{5}$—$^{1}/_{2}$%iger Lösung; dann Maceration 2—3 Tage lang in $^{1}/_{50}$%iger Chromsäurelösung. Zerzupfen in verdünntem Glycerin; *b)* nach Ranvier: Fixation 24 Stunden in 1%iger Lösung. Augen von kleinen Thieren in toto; Maceriren 2—3 Tage in Wasser; *c)* nach Kuhnt wie *b*; Maceration jedoch 2 Wochen lang in Wasser, darauf 4 Wochen lang in einem Gemisch von verdünntem Alkohol mit Glycerin (10%).

2. Jodserum (Max Schultze).

3. Müller'sche Lösung.

4. Ranvier's Drittelalkohol; nach Thin 36—48 Stunden lang.

5. Nach W. Krause: *a)* in Chloralhydrat 10%, mehrere Tage lang; *b)* in Lysol 10%, 3—24 Stunden lang; Zerzupfen in Wasser (Reinke).

6. Schiefferdecker[60]): Gemisch von Glycerin 10, Methylalkohol 1, Aq. dest. 20; einige Tage lang.

Um Querschnitte zu gewinnen, und wenn es auf eine isolirte Behandlung der Retina nicht ankommt, wird in jedem Falle der Bulbus im ganzen und uneröffnet fixirt:

a) nach Leber in Formol (1 : 9 Wasser);

b) nach Lee-Mayer-Johnsohn: α) 2—3 Minuten lang Fixation mit den Dämpfen einer 2%igen, bis nahe zum Kochen erhitzten Osmiumsäurelösung, β) Einlegen in ein Gemisch von Formol 4, Platinchlorid (1%) 30, einige Tage lang;

c) Augen von Kaninchen, Katzen, Affen, Embryonen, Kinderaugen nach Johnson's Methode (s. oben pag. 1231).

Specielle Darstellung der einzelnen Schichten und ihrer Elemente.

1. Pigmentepithel. *a)* Frisch untersucht:

Die Kuhnt'schen Hüte, aus Neurokeratin bestehend, bleiben bei der Verdauung mit Trypsin unverändert.

Das Fuscin löst sich theilweise in dem Mayer'schen Bleichungsmittel (Sol. Kal. chlorat. + Acid. mur.[79]), langsam in heisser Kalilauge (Kühne); es erweist sich sehr resistent bei der Fäulnis, wobei es bisweilen amorph wird.

Lipochrin (beim Menschen fehlend) ist durch die gewöhnlichen Fettlösungsmittel extrahirbar, färbt sich mit Osmiumsäure tiefbraun, mit Lugol'scher Lösung grün bis blau, mit Salpetersäure blaugrün, mit Schwefelsäure violett.

Myeloidkörner (beim Menschen fehlend) sind in Fettlösungsmitteln unveränderlich, werden jedoch durch Osmiumsäure bei langer Einwirkung unrein braungrün gefärbt.

Guanin (von Brücke entdeckt, von Kühne eingehend studirt) ist in den Pigmentfortsätzen der Fischretina — und der Retina einiger Reptilien —, dieselben perlschnurartig auftreibend,

massenhaft, in der Zellbasis spärlicher enthalten, liefert durch seine Anhäufung daselbst und sein kreidig weisses Aussehen das retinale Tapetum genannter Wirbelthiere, und zwar an derjenigen Stelle des Hintergrundes, welche nach der Orientirung des Auges am Kopf und dem Bau desselben unter gewöhnlichen Verhältnissen das meiste — vom Grunde kommende — Licht empfängt (hinten oben). Das Vorkommen des Guanins hat dadurch eine ganz besondere Bedeutung erhalten, dass 1. der Stäbchenpurpur sich (bei Abramus brama violett) davon sehr deutlich abhebt und es dadurch möglich ist, den Einfluss quantitativ und qualitativ verschiedener Belichtung auf den Stäbchenpurpur zu studiren, 2. dass es sozusagen eine Marke abgiebt, vermittels deren man sich über die Ausdehnung und das Verhalten der Pigmentfortsätze bei der Belichtung und im Dunkeln, sowie über die Wege, welche dabei die Pigmentkörnchen einschlagen, orientiren kann.

Nachweis des zwischen den Stäbchen, bezw. Zapfen und den Pigmentfortsätzen vorhandenen, intra vitam mit einer strukturlosen, elastischen Substanz ausgefüllten Zwischenraumes durch Injektion mit Berliner Blau unter die Pialscheide des Sehnerven.

b) Zur Herstellung von Flächenpräparaten behufs Veranschaulichung des Zellmosaiks: Fixation in MÜLLER's Lösung, Abheben der Netzhaut, Abziehen der Chorioidea von der Sklera; auf dem Objektträger Abziehen der Gefässschichten der Chorioidea bis auf die Choriocapillaris; Umkehren des Präparats; Einschluss.

Zur Untersuchung der verschiedenen Höhe, der verschiedenen Breite der Zellen je nach ihrem Standort und zur Feststellung der Zahl der auf je eine Pigmentepithelzelle kommenden Stäbchen, bezw. Zapfen (in der Fovea auf 1 Zelle 9 Zapfen, GREEF): Härtung in Formol, Einbettung in Celloidin oder Paraffin (s. oben, zweimalige Einbettung), Anfertigung feiner Meridionalschnitte durch den ganzen Bulbus, Färbung mit Eisenhämatoxylin, VAN GIESON; oder auch zu demselben Zweck Isolirung der Zellen, die verschiedenen Stellen entnommen sind.

2. Stäbchen (Aussenglied, Zwischenscheibe, Innenglied).

a) Aussenglied: 1. An — nach Maceration in Osmiumsäure (nach RANVIER) — isolirten Stäbchen einer menschlichen Retina sieht man, dass sich das Aussenglied schmutzig grünbraun gefärbt hat; durch längere Maceration gelingt es, einen Zerfall in Plättchen herbeizuführen; dasselbe Resultat erhält man beim Zerzupfen der Retina in Humor aqueus. Die Kittsubstanz zwischen den Plättchen ist mit Osmiumsäure nicht zu färben. Durch Verdauung mit Trypsin kann man an dem Aussenglied eine Neutrokeratinhülle nachweisen, die sich auch noch auf das Innenglied bis zur Membrana limitans externa erstreckt. Die sogenannte RITTER'sche Axenfaser ist ein Kunstprodukt.

Das Gleiche kann man nicht sagen von der Axenfaser, die sich in den auf der Innenseite der Retina mehrerer Alciopidenarten angeordneten Stäbchen befindet. Hier lässt sich im Innern der Stäbchen eine gewundene Faser, die in, nicht mit einem Knöpfchen endet, nachweisen, die durch Hämalaun färbbar ist und welcher das Stäbchen nur als Stütze dient. — Nähere Einzelheiten über den interessanten Bau dieses durch eine Glaskörperdrüse und den Besitz eines sogenannten GREEF'schen Organes — die Zellen des letzteren haben eine gewisse Aehnlichkeit mit den Zellen des Ringwulstes der Vogellinse, ohne natürlich zu der Linse in Beziehung zu stehen — ausgezeichneten Auges s. R. HESS.[61])

Einen Zerfall in Kugeln, Schollen und Körner, ebenso wie bei der Nervenmarkscheide kann man an dem Aussenglied herbeiführen, wenn man die Retina in Wasser zerzupft oder mit MÜLLER'scher Lösung fixirt.

Die Schollen sind ebenfalls mit Osmiumsäure, ebenso wie das Myelin zu färben, unterscheiden sich von dem letzteren jedoch durch die Farbennuance (nicht braun, resp. schwarz, sondern grünbraun). Die Intensität der Färbung dieser als Myeloidkörner bezeichneten Zerfallsprodukte mit Osmiumsäure richtet sich nach dem Gehalt an Myeloid.

Eine wesentlich andere Anschauung von dem Aufbau des Stäbchenaussengliedes soll man erhalten, wenn man die Stäbchen mit 10%iger Lysollösung (W. KRAUSE) nach dem REINKE'schen Verfahren macerirt, indem man hierbei Gebilde erhalten soll, die aus Fasern in korkzieherlockenartiger Anordnung zusammengesetzt erscheinen.

b) Innenglied: Ist einer Färbung durch Kernfarben und Jodlösung zugänglich; das Stäbchenellipsoid der Fische und der Amphibien und der

ihm homologe Fadenapparat bei den Säugethieren markirt sich bei Osmiumsäurebehandlung durch eine dunklere Färbung.

Die Faserkörbe sind am leichtesten ablösbar bei Maceration in Osmiumsäure oder Jodserum.

Negative Optogramme durch Ausbleichen des Stäbchenpurpurs an Stellen, die durch vorgesetzte undurchsichtige Figuren nicht geschützt sind, lassen sich nach Kühne's Vorgang sehr leicht zur Anschauung bringen. Es ist dabei unnöthig, sich der Kühne'schen Versuchsanordnung zu bedienen. Wichtig und theoretisch interessanter ist die ebenfalls von Kühne gefundene Thatsache, dass der Stäbchenpurpur durch diejenige Lichtqualität gebleicht wird, die er selbst absorbirt. Zu diesem Zweck entwirft man mittelst eines Prisma und eines Spiegels ein Spektrum auf eine horizontale Fläche und legt nun einen Streifen purpurreicher Dunkelnetzhaut von annähernd derselben gleichen Länge, wie die des Spektrum, auf das entworfene Spektrum. Die violette Fischretina (Bley) wird am stärksten im Rothgelb, am schwächsten im Blauviolett gebleicht. Umgekehrt bei der Froschretina mit mehr rothem Stäbchenroth, die im Indigoblau und Violett viel mehr an Farbe verliert, wie die des Fisches.

Der ausgebleichte Farbstoff der Froschretina regenerirt seine Farbe durch Auflegen auf das Pigmentepithel, die des Fisches nicht. Dagegen ist der Stäbchenpurpur des lebenden Fisches lichtbeständiger, als der des Frosches. Beim lebenden Fisch gelingt eine Ausbleichung nur, wenn man statt des gemischten Lichtes solches von der Wellenlänge der absorbirten Farbe verwendet.

Um die viel wichtigeren Vorgänge, die sich an den Pigmentfortsätzen und den Zapfeninnengliedern abspielen, kennen zu lernen, empfiehlt es sich, Parallelversuche anzustellen, am besten bei Fröschen und ganz besonders bei Fischen, deren Retinae, ausgezeichnet durch den Besitz eines Tapetum, vorzüglich für die Gewinnung instruktiver Präparate geeignet sind. Technisch ist es allerdings einigermassen schwierig, das Auge eines Fisches, ohne dass derselbe in seiner Zwangslage an vitaler Energie einbüsst, längere Zeit, ca. 20 Minuten, dem Sonnenlicht auszusetzen. Nach Birnbacher[62]) sind belichtete Netzhäute mit saueren Farbstoffen nur sehr schwach färbbar. Im Biondi-Heidenhain'schen Gemisch färben sich die Zapfen der belichteten Retina grün, der unbelichteten gelb. — Die alkalische Reaktion der Dunkelnetzhaut geht bei Belichtung mehr und mehr in die sauere über (Angelucci).

Der Dunkelfrosch, beziehungsweise Fisch wird 24 Stunden im Dunkeln gehalten, Enukleation bei der Natronflamme, Fixation in Alkohol (nach Kühne), Anfertigung von Querschnitten. Bei den Fischen ist ganz besonders auffallend die enorme Ausdehnung der Pigmentverschiebung, die nur an den tapetirten Stellen stattfindet. Beim Dunkelfrosch fällt dagegen die ganz gewaltige Verlängerung des Zapfenmyoids auf.

3. Zapfen. Untersuchungsmethoden wie beim Stäbchen.

Durch Querschnitte aus der Maculagegend an in Salpetersäure gehärteten (Alkohol zieht die Farbe aus) Netzhäuten kann man sich überzeugen, dass der Farbstoff die Zapfen nicht durchtränkt.

Oelkugeln. Demonstration des rothen Feldes im hinteren oberen Quadranten, des gelben Feldes in den drei übrigen Theilen bei der Taube nach Halbirung des Bulbus im Aequator und Eintauchen in physiologische Kochsalzlösung.

Härtung mit Salpetersäure (3—5%) zur Herstellung von Flächenpräparaten, Querschnitten und Zupfpräparaten. Die Salpetersäure konservirt die Oelkugeln in ihrer natürlichen Farbe. Die Grundlage der Kugel schwärzt sich mit Osmiumsäure. Der Farbstoff ist mit Fettlösungsmitteln zu extrahiren; darauf basirt die Herstellungsweise von drei Pigmentarten (Chlorophan, Xantophan, Rhodophan). An isolirten Zapfen einiger Vögel und Reptilien kann man sich überzeugen, dass der Farbstoff in diffuser Vertheilung auch im Innenglied vorhanden ist.

Untersuchung der Zahl und der Vertheilung der Stäbchen und Zapfen an der frischen, auf einem Objektträger mit der Aussenfläche nach oben gekehrten Retina.

4. Membrana limitans externa. Nachweis des Zusammenhanges der Müller'schen Stützfasern mit der Membrana l. externa durch Behandlung mit Jodserum und durch das Golgi'sche Verfahren. Um von dem siebartigen Charakter der Membran sich eine Vorstellung zu verschaffen, empfiehlt es sich (nach W. Krause), die Retina in dünner Chromsäure (0,05%) zu erhärten, mit dem Gefriermikrotom Flächenschnitte anzufertigen und die

Schnitte aus dem Niveau der Membr. limit. externa mit einem feinen Pinsel zu behandeln.

5. Aeussere Körnerschicht. Die Querstreifung der Stäbchenkörner ist bedingt durch eine eigenthümliche Anordnung des Chromatins, die sich in gleicher Weise am frischen wie am fixirten Präparat nachweisen lässt.

Relative oder absolute Verminderung des Chromatingehaltes der Stäbchenkörner bei Belichtung noch zweifelhaft.

Härtung in Sublimat, Formol oder Flemming, Färbung mit Kernfarbstoffen zur Darstellung der Chromatinanordnung; mit Osmiumsäure, um das Kernkörperchen sichtbar zu machen. Zapfenfaser, Stäbchenfaser, Landolt'sche Keulen, Henle'sche Faserschicht, gliöses Netz- und Plattenwerk: Alle diese Elemente sind in ihrem Aufbau und ihren Beziehungen zu den übrigen Schichten darzustellen durch die sogenannten anatomischen Methoden von Golgi-Cajal, beziehungsweise Ehrlich-Dogiel (siehe pag. 491 ff. u. 809 ff.

Um Uebersichtsbilder zu gewinnen, eine Färbung sämmtlicher überhaupt vorhandener Elemente zu erhalten, schliesslich um die feinere Struktur des normalen oder pathologisch veränderten Zellinhalts, seiner Ausbreitungen und Produkte zu erforschen, kommen daneben die allgemeinen, beziehungsweise speciell neurohistologischen, cytologischen Methoden zur Anwendung.

In letzterer Beziehung ist der specifische nervöse Apparat des Auges, dank der hervorragenden Sicherheit, mit welcher eine klinische Diagnose gestellt werden kann, wodurch sich die Augenheilkunde bekanntlich vor allen anderen medicinischen Disciplinen auszeichnet, sowie dank der Möglichkeit, specifische adäquate Reize anzuwenden, und vermöge der relativen Leichtigkeit, mit welcher die Retina als ein alle Elemente des Nervensystems enthaltendes Untersuchungsobjekt verwerthet werden kann, ganz besonders geeignet, Aufschluss darüber zu geben, welchen Einwirkungen der verschiedensten Art bestimmte, mikroskopisch nachweisbare Veränderungen der Zellen des Nervensystems überhaupt entsprechen; hier, wenn überhaupt irgendwo, können sichere klinische Beobachtung und mikroskopische Untersuchung unmittelbar Hand in Hand gehen. So unendlich werthvoll die anatomischen Methoden geworden sind zur Aufdeckung des komplicirten Baues der Retina, ebenso wichtig ist die cytologische Untersuchung der nervösen Elemente der Retina für das Studium der Physiologie und Pathologie der Nervenzellen.

Als allgemeine Uebersichtsfärbungen dienen die Färbungen mit Hämatoxylin nach van Gieson, mit Eisenhämatoxylin, Eisenhämatoxylin — van Gieson, nach Biondi-Heidenhain, mit Safranin etc. Speciell für die Untersuchung der nervösen Körner und der Ganglienzellen der Retina empfiehlt sich nach Birch-Hirschfeld [63]) folgendes Verfahren:

1. Fixation mit Sublimat (nach Mann) in 0,75%iger Kochsalzlösung bei 30° C gesättigt.
2. Einbettung in Paraffin.
3. Sehr feine Schnitte (1 μ mit Zimmermann'schem Mikrotom); Ankleben.
4. Färbung 10 Minuten in 1%iger Thioninlösung; kurz Abspülen mit Aq. dest.
5. Schnell mit Erythrosinlösung nach Held (1:150,0 und einige Tropfen Acid. acet.) übergiessen und wieder mit Aq. dest. abspülen. Kurze Entwässerung, Xylol, Kontrole der Färbung — besonders an dem Verhalten des Zellkerns der inneren und äusseren Körner zu prüfen —, nochmals Xylol, Kanadabalsam.

Ein besonderes Verhalten gegen saure Anilinfarben, mit denen sie sich stärker tingiren, zeigen die sogenannten vorgelagerten Körner. Die zu diesen Körnern gehörigen Zapfen lassen dabei keine Trennung in Aussen- und Innenglied erkennen (Greff).

6. Zwischenkörnerschicht, äussere plexiforme Schicht. Von dieser Schicht kann man sich eine Flächenansicht (unvollkommen, da die Trennung in der Regel innerhalb der Schicht erfolgt) dadurch verschaffen, dass man die Gehirnschicht von der Neuroepithelschicht trennt. Man erreicht dieses am leichtesten bei Fischen, nach Maceration in Müller's Lösung oder nach Maceration in Drittelalkohol oder verdünnter Chromsäure (Ranvier); schwieriger bei Säugethieren; beim Pferde durch Einlegen des aufgeschnittenen Bulbus in dünne Chromsäurelösung (0,25—0,75%) auf 10—20 Tage.

Man erhält dann die äussere plexiforme Schicht in Verbindung mit einem Theil der inneren Körner (Rivolta, cit. nach Schwalbe [64]).

7. Innere Körnerschicht: *a)* Lage der horizontalen Zellen, bei Fischen dreifach, Flachschnitte; *b)* Schicht der Bipolaren; *c)* Schicht der amakrinen Zellen, α) schichtenbildende-Querschnitte, β) diffuse Querschnitte, γ) Associationsamakrinen, Quer- und Flachschnitte.) Anatomische und cytologische Methoden siehe äussere Körnerschicht.

8. Innere plexiforme Schicht. Anatomische Methoden.

9. Ganglienzellenschicht. Querschnitte und Flächenpräparate. Am besten verwendet man zur Untersuchung in frischem Zustande in Humor aq. Stellen aus der Peripherie.

Es zeigt sich hierbei, dass der Zellkern auch im lebenden Zustande der Zelle sichtbar ist (cfr. RANVIER, Lehrbuch der mikr. Techn.). Zwillingsganglienzellen an Flächenpräparaten. Anatomische und cytologische Methoden.

10. Nervenfaserschicht. v. MICHEL gelang es durch eine besondere Isolationsmethode [65]) den Verlauf und die Anordnung der Nervenfasern in einem bis dahin unbekannten Grade der Vollendung zur Anschauung zu bringen. Es ist sehr zu bedauern, dass die v. MICHEL'schen Tafeln bisher keine allgemeine Verbreitung gefunden haben. Die sonstigen Abbildungen in Lehr-, Handbüchern und Atlanten geben auch nicht annähernd eine Vorstellung von dem wirklichen Verhalten des Nervenfaserverlaufes, insbesondere von der Anastomosirung der Faserbündel, von dem verschiedengestaltigen Aussehen der Maschen in den centralen und in den peripheren Partien, der doppelten Schichtung nach oben-aussen von der Papille, der eventuellen Ueberlagerung der Centralgefässe von den Papillomacularfasern, von dem Verlauf der Gefässe innerhalb der Bündel etc.

Die den Abbildungen zugrunde liegenden Präparate gewinnt man nach v. MICHEL in der Weise, dass man

1. die in MÜLLER'scher Lösung oder 2%iger Kal. bichrom.-Lösung fixirte Retina von der Chorioidea und Sklera in der Weise ablöst, wie es bei der Isolirung der frischen Retina oben beschrieben ist, mit dem Unterschiede, dass man den Sehnerv nicht vollständig herauslöst, sondern ihn in der Lamina cribr. durchtrennt, so dass sich die Papille im Präparat befindet;

2. dass man die mit ihrer Innenfläche auf einem Objektträger ausgebreitete und geglättete Netzhaut durch Aufträufeln einer filtrirten Lösung von Glycerin und Gummi (mit Zusatz von etwas Acid. carbol.) und Verdunstenlassen unter einer Glocke auf dem Objektträger zum leichten Antrocknen, bezw. Ankleben bringt;

3. die über der homogenen, durchsichtigen Nervenfaserschicht befindlichen Lagen durch Ansetzen einer Staarnadel mit der scharfen Kante an der Papille abschabt, indem man sich dabei an die Richtung der Nervenfaserbündel hält;

4. das durch Abspritzen gereinigte Präparat durch Eintauchen mit dem Objektträger in Wasser vom Klebemittel befreit, eine Kernfärbung vornimmt, entwässert, aufhellt und in Balsam einschliesst.

Von dem Vorhandensein von Nervenfasern auch im Gebiet der Macula lutea, ihrer Ringbildung am Rande der Fovea, dem Herabschicken sehr feiner Aestchen bis auf den Grund der Fovea überzeugt man sich am besten an Präparaten nach EHRLICH-DOGIEL.

Von den anatomischen Methoden giebt letztere überhaupt für die Darstellung der Nervenfaserschicht die besten Resultate.

Die Nervenfasern sind frisch sehr schwer zu isoliren. Besser nach Maceration in SCHWEIGGER-SEYDEL's 10%iger Kochsalzlösung oder Chromsäure (0,05%), oder Kal. bichrom. (0,5%). Während sie jedoch frisch glatt erscheinen, zeigen sie nach der Maceration Varikositäten. Am wenigsten noch bei Härtung in Alkohol.

Nachweis der Neurogliazellen der Nervenfaserschicht durch GOLGI's Methode.

11. Margo limitans interna. Versilberung nach SCHELSKE mit 0,3%iger Silbernitratlösung, nach Entfernung des Glaskörpers und der Hyaloidea, zur Darstellung der Kittlinien zwischen den Fussplatten der Stützzellen.

Denselben Zweck erreicht man auch durch GOLGI's Verfahren. Isolirung der Radiärfasern durch Maceration in Drittelalkohol (nach RANVIER), wobei jedoch die seitlichen Anhänge der Stützzellen geknickt oder zum Theil aufgerollt werden, oder durch Maceration der versilberten Retina in Glycerin.

Durch Einstichinjektion unter die Pialscheide des Sehnerven gelingt es, eine Trennung zwischen der Membrana hyaloidea und Margo limitans herbeizuführen (SCHWALBE).

12. Das gliöse Stützgewebe kann beliebig gefärbt werden.

Genaueren Aufschluss über die reiche Architektonik desselben, besonders über die wundervollen Büschelbildungen in der inneren plexiformen Schicht der Retina der Taube, wie sie GREEF abbildet, erhält man jedoch nur, wenn man sich des Verfahrens von GOLGI-CAJAL bedient. Annähernd dieselben Bilder von der Neuroglia erhält man auch bei der Bleiimprägnation nach KRONTHAL[66]) (Verf.).

Zu diesem Zweck befestigt man den hinteren, nach vorne ausgestülpten Augapfelabschnitt (nach Abtrennung der Sehnerven hart am Bulbus) auf einem kuppelförmig zugeschnittenen und zugefeilten Kork mit einigen Nadeln und bringt das Präparat sammt Kork in ein Gemisch von Formol (6%) 20 und ameisensaure Bleilösung 80 Theile (auf 3—5 Tage). Alsdann wird dasselbe Präparat mit dem Kork ohne Auswaschen in ein Gemisch von Formol (10%) und Schwefelwasserstoff gebracht in der Weise, dass die Retina nach unten gekehrt ist und die entstehenden Niederschläge sich nicht auf der Retina absetzen können; das Präparat verbleibt hierin, bis es tief schwarz gefärbt ist. Entfernung des Korkes, gründliches Abspülen, Entwässern, erste Einbettung in Paraffin, Abschaben des Paraffins an der Aussenseite des Bulbus, Abschaben, bezw. Abziehen der Sklera und Chorioidea mit der Pincette, nochmalige Einbettung in Paraffin (cfr. oben), Schneiden. Nervöse Elemente und Stützfasern intensiv grauschwarz, bezw. gelbschwarz imprägnirt.

WEIGERT'sche Neurogliamethode auf die Retina angewendet (PINES, SELIGMANN) giebt keine elektive Färbung (GREEF[67]).

13. Macula lutea: Zur Konservirung des bekanntlich nur beim Menschen und Affen vorhandenen, in Alkohol löslichen Farbstoffes, Fixirung in Salpetersäure (3—5%). Das Foramen centrale, die sog. Plica centralis sind Leichenerscheinungen.

Zur Orientirung über die Form der Fovea centralis mit Umgebung, über die Betheiligung der verschiedenen Schichten an dem Aufbau des makularen Retinalgewebes, über die specielle, von dem Verhalten in den übrigen Theilen des Fundus oculi abweichende Art der Kontaktverbindungen dienen vor allem Querschnitte von nach GOLGI-CAJAL, bezw. EHRLICH-DOGIEL behandelten Präparaten.

Die mehrschichtige Anordnung der Amakrinen in der Umgebung der Fovea erkennt man am besten vermittelst einer Safraninfärbung (die Kerne der Amakrinen zeichnen sich bekanntlich durch ein stärkeres Färbungsvermögen mit Kernfarbstoffen aus). Untersuchung des Nervenfaserverlaufes in der Fovea an Präparaten nach DOGIEL — Flächenpräparate und Querschnitte.

Zur Demonstration der sechseckigen Abplattung der Zapfen in der Gegend der Macula Flachschnitte.

14. Die Art der Vertheilung der Blutgefässe in der Nervenfaserschicht erkennt man am deutlichsten an Flächenpräparaten nach v. MICHEL.

Zur Darstellung der beiden Kapillarnetze in der inneren plexiformen Schicht und an der äusseren Grenze der inneren Körperschicht dienen die üblichen Injektionsmethoden.

Forcirt man hierbei den Druck, so kommt es nach dem Zerreissen der Gefässwand zu einem Uebertritt der Injektionsmasse in die eigenartigen perivaskulären, nach aussen durch ein Endothelrohr abgegrenzten Lymphräume, die die Kapillaren und Venen kontinuirlich, die Arterien nur streckenweise umgeben. Eben dieselben Lymphräume werden durch Einstichinjektion unter die Pialscheide des Sehnerven gefüllt (SCHWALBE). Hierbei erhält man jedoch ausserdem noch ein zweites perineurales, von der Papille radiär ausstrahlendes System von Lymphwegen injicirt, dessen weitere Füllung eine Loslösung der Membrana hyaloidea von der Margo limitans interna bewirkt (s. oben).

Experimentelle Erzeugung von Embolien der Netzhautgefässe durch Injektion von Quecksilber in die Carotis interna (BIRCH-HIRSCHFELD).

Degeneration der nervösen Elemente, Wucherung der Stützsubstanz ist artficiell zu erzielen durch Blendung mit Sonnenlicht ($^3/_5$ Sekunden ausreichend, Verf.) mit elektrischem Bogenlicht (Widmark[88]), Birch-Hirschfeld, Verf.); mit Chinin, Farnwurzelextrakt, Schwefelkohlenstoff (Birch-Hirschfeld[83]) Methylalkohol; durch Durchschneidung des Sehnerven, ohne oder mit (absichtlicher) Durchtrennung der hinteren Ciliar- und Centralgefässe (v. Michel, Birch-Hirschfeld, Hertel[89]).

Ueber den Einfluss der Entziehung, bezw. Einschränkung der Sauerstoffzufuhr (Phosphorvergiftung) auf die Entstehung von Fettdegenerationsherden in der Retina siehe A. Fraenel[90]).

Netzhautentzündung, Netzhautablösung ist experimentell hervorzurufen durch Einbringung von entzündungserregenden Substanzen, bezw. Fremdkörpern in den Glaskörper (Schöler, W. Wolff, Leber, Bach).

Die Untersuchung von arteriosklerotisch veränderten Gefässen der Netzhaut (wie des Sehnerven) hat ergeben, dass das Wesentliche des Processes in einer Wucherung des elastischen Gewebes besteht.

Es ist deshalb in jedem Fall von Arteriosklerose der Gefässe die Untersuchung auf elastisches Gewebe vorzunehmen. Hertel empfiehlt zu diesem Zweck ganz besonders die Weigert'sche Methode.[91])

Ueber den Nachweis von Verfettung und hyaliner Entartung s. pag. 361 ff.

Die Untersuchung von Gliomen ergiebt ausserordentlich interessante Verhältnisse, indem mit der Golgi'schen Silberimprägnationsmethode typische Neurogliazellen und Ganglienzellen in der Tumormasse nachzuweisen sind.

Dagegen gelingt es nicht mit Sicherheit vermittelst der Weigert'schen Neurogliafärbung Gliafasern aufzufinden, Hertel[92]), Greef[93]). Bisweilen ist wegen hochgradiger Ablagerung von Kalkkonkrementen, als Folgeerscheinung der regressiven Metamorphose, behufs Anfertigung von Schnittpräparaten Entkalkung des Gewebes erforderlich.

Ueber die Photographie des Augenhintergrundes siehe Dimmer.[94])

XI. Sehnerv. *A.* Scheiden. Injektion der zwischen den Lamellen der äusseren, lockeren, longitudinalen Schicht der Duralscheide vorhandenen, mit dem grossen Arachnoidealsack kommunicirenden Lymphgefässe (Kapillaren) durch Einstichinjektion in die Duralscheide. Darstellung des die Lymphkapillaren kontinuirlich auskleidenden Endothelbelages durch Zerzupfen am frischen Präparat (v. Michel[95]) oder nach Maceration eines Duralscheidenstückes in Kal. bichrom., 3—5% (einige Tage), oder nach Fixation in 1%iger Osmiumsäure und anschliessender Maceration in Drittelalkohol oder verdünntem Glycerin (Kuhnt).

Beim Walfischauge (Delphin) befindet sich zwischen der enorm verdickten äusseren Längsfaserlage und der dünnen Ringfaserlage der Duralscheide ein mächtiger, sich innerhalb der Sklera pilzförmig erweiternder Spaltraum, der somit nicht dem Intervaginalraum entspricht.[96])

Isolirung des den Supra- und Intravaginalraum, sowie die Verbindungsbalken auskleidenden Endothelüberzuges nach Maceration in Müller'scher Lösung (Schwalbe, Kuhnt). Versilberung der Kittlinien durch $^1/_4$%ige Silbernitratlösung.

Getrennte Injektion des subduralen und des Subarachnoidealraumes vom Gehirn aus (Key und Retzius[97]).

Darstellung des elastischen Gewebes der Duralscheide durch Einlegen eines Duralstückes in Kalilauge für mehrere Tage und Zerzupfen (Sattler[56]) oder an Schnittpräparaten durch die Unna-Tänzer'sche Orceïnmethode (Sattler) oder Weigert's Methode. Ebenso wie man bei der sog. Argyrosis conjunctivae eine tadellose Imprägnation der elastischen Fasern findet, so gelingt es auch an der Duralscheide die elastischen Fasern mittelst der Silberimprägnationsmethode darzustellen (Martinotti, Tartuferi).

Beim Ablösen der Duralscheide vom Sehnerven verbleibt die Arachnoidea bei der Duralscheide und ist von dieser mit einer Pincette abzuziehen (Greef[87]). Untersuchung der spärlichen elastischen Fasern im Innern, ferner an der Oberfläche der Verbindungsbalken.

B. Sehnervenstamm. Eine Orientirungsmarke am Sehnerven gewinnt man nach Greef[17]) am einfachsten dadurch, dass man an der tem-

poralen Seite einen Schnitt durch die Duralscheide zieht. Der intrabulbäre Theil des Sehnerven wird gewöhnlich an Längsschnitten untersucht, für die übrigen Abschnitte bevorzugt man aus leicht verständlichen Gründen Querschnitte. Fixation in MÜLLER'scher Lösung oder Formol-Müller. Um ein leichteres Eindringen der Fixir-, Härtungs- und Einbettungsmedien zu erzielen, wird der Sehnerv in Abschnitte von 5—10 Mm. Länge zerlegt in der Weise, dass die Segmente durch eine an der medialen Seite stehen gelassene Brücke noch im Zusammenhang erhalten werden (cave Eintrittsstelle der Centralgefässe, in der Norm 10—12 Mm., aber auch 7—15—20 Mm. hinter dem Bulbus).

Der Eintritt der Centralgefässe erfolgt beim Fötus im unteren-inneren Quadranten, beim Erwachsenen dagegen mehr von unten her.

Einbettung in der Regel in Celloidin. Bei sehr dünnen Scheiden, spärlicher, intraneuraler Bindegewebsentwicklung (Sehnerven mancher Thiere oder von Embryonen) oder wenn aus besonderen Gründen die Untersuchung der Scheiden vernachlässigt und letztere deshalb abgelöst werden können, ist auch Paraffin-, bezw. kombinirte Einbettung zulässig, bezw. vortheilhaft. Es gilt das besonders dann, wenn es sich mehr um den Nachweis von Entzündungs- oder Neubildungsprocessen handelt.

1. Bindegewebiges Septum. Isolirung nach Maceration des Sehnerven in 0,05%iger Chromsäure, Anfertigung von Quer- und Längsschnitten mit dem Gefriermikrotom und Auspinseln der Nervenfasern. Einfache Kern- oder Mehrfachfärbung, Untersuchung der Querbalken (die eins der unterscheidenden Merkmale des Sehnerven gegenüber allen übrigen Nerven repräsentiren) an Längsschnitten. — Untersuchung auf elastische Fasern nach den üblichen Methoden.

Darstellung der mit dem Bindegewebe eindringenden Nerven (von den Ciliarnerven abstammend) durch Maceration des Sehnerven in 3%iger Essigsäure (W. KRAUSE). Dieselben unterscheiden sich von den Optikusfasern durch den Besitz von Schnürringen (KUHNT), welche ebenso wie eine Neurilemmscheide den Optikusfasern fehlen (RANVIER[78]).

2. Optikusfasern. Isolation (wegen der Querbalken schwierig) nach Fixation in Osmiumsäure (1%) und Maceration in Wasser — vergl. Retina, Sehepithel. Man kann dabei auch so verfahren, dass man Osmiumsäure in den Sehnerv einspritzt (RANVIER). Oder nach Maceration in Chromsäure (0,05%). Darstellung auf Schnitten nach GOLGI-CAJAL.

Ob die hiernach an den Fasern wahrnehmbaren Verdickungen, die allerdings stellenweise Einschnürungen aufweisen, den sonst an markhaltigen Fasern vorhandenen Schnürringen entsprechen, dürfte wohl noch dahinstehen. Jedenfalls erkennt RANVIER, der Entdecker der Schnürringe, solche an den Optikusfasern nicht an.

3. Gliöse Zwischensubstanz. Isolirung der Gliazellen durch Zerzupfen (LEBER); durch Injektion von Osmiumsäure, 2%, in den Sehnerven, Ausschneiden eines geschwärzten Stückes, Zerzupfen (RANVIER); Fixirung in 1%iger Osmiumsäure, Maceration in Wasser, Zerzupfen (KUHNT); vollständige Darstellung der Zellen mit ihren Ausläufen nach GOLGI's Verfahren. — Bei der WEIGERT'schen Neurogliamethode bleibt das Zellprotoplasma ungefärbt. Färbt man mit Pikrokarmin, nach Fixation mit Ammon. bichrom., so werden Kern, Zelle und Fasern roth gefärbt; legt man jedoch die mit Pikrokarmin gefärbten Schnitte 10—12 Stunden lang in ein Gemisch von Alkohol und Ameisensäure, so behalten die Axencylinder eine schwache Rosafärbung, während die Gliakerne roth gefärbt bleiben, alles übrige (Gliafasern, Protoplasma der Gliazellen) wird farblos (RANVIER). — Färbt man nach Härtung in Ammon. bichrom. mit RANVIER'scher Orceïnlösung, so werden die Axencylinder und die Neurogliazellen dunkelbraun gefärbt, die Gliafasern dagegen fast gar nicht. Ueber die Neurogliafärbung nach MALORY siehe pag. 1024.

C. Ueber die Veränderungen des Sehnerven und seiner Scheiden beim Eintritt in den Bulbus und beim Passiren des Durchtrittsloches informirt man sich am besten bei der Untersuchung von horizontalen Meridionalschnitten (Längsschnitte). Ueber den Reichthum der Lamina cribrosa an elastischen Fasern auf Längs- und Querschnitten durch dieselbe.

D. Lymphräume.

1. Injektion des Subduralraumes vom Gehirn aus (Key und Retzius[77]).
2. Injektion des Subarachnoidealraumes vom Gehirn aus (Key und Retzius[77]).
3. Injektion des supravaginalen, des Tenon'schen Raumes und der intraduralen Lymphräume vom Intravaginalraum aus (v. Michel, Injektion mit Druckschwankungen[75]).
4. Injektion des Perichorioidealraumes vom Supravaginalraum aus (v. Michel[75]).
5. Injektion der subpialen, subtrabekulären (Trabekel der Lamina cribrosa einschliesslich) der perineuralen (Papille und angrenzende Retina), der interneuroepithelialen (Pigmentepithel-Stäbchen-Zapfen) und subhyaloidealen (Margo limitans retinae — Membrana hyaloidea) mit einer Endothelauskleidung nicht versehenen Lymphbahnen, durch Einstichinjektion unter die Pialscheide (Schwalbe[79]), Key und Retzius[80]).
6. Injektion der subtrabekulären Saftbahnen der Lamina cribrosa vom Gehirn aus (Schmidt-Rimpler[81]), vom Intervaginalraum aus (Wolfring[82]).
7. Injektion der subpialen Saftbahnen des Opticus der einen Seite durch Injektion unter die Pia des Opticus der anderen Seite (Horner und Knies[83]).

Zum Nachweis entzündlicher, degenerativer und atrophischer Veränderungen dient als beste Uebersichtsfärbung diejenige mit Eisenhämatoxylin-van Gieson: Axencylinder roth, Markscheiden gelb, normale und gewucherte Glia tiefroth, Ganglienzellen blassroth, Kerne blaugrau-schwarz bis tiefschwarz, eventuell auch Alaunkarmin-Pikrofuchsin (Resultat wie vorher, nur erscheinen die Kerne violettbraun); Weigert's Markscheidenfärbung und Marchi's Verfahren siehe pag. 937 u. 962.

Ueber die Darstellung der Axencylinder (möglichst vollständige Färbung sämmtlicher überhaupt vorhandener normaler oder degenerirter Axencylinder) nach v. Kupffer an mit Osmiumsäure fixirten Präparaten mit Säurefuchsin, über die Färbung der Neurofibrillen mit Apáthy's Hämateïnthonerde, oder mittels der sogenannten Nachvergoldung von Apáthy siehe pag. 933 u. 936.

Corpora amylacea, die aus den Kernen des Gliagewebes entstehen sollen, färben sich wie die Kerne mit Hämatoxylin blau, mit Lugol'scher Lösung gelb, mit Jod- und Schwefelsäure blau.

Experimentelle Erzeugung von Degeneration des Sehnerven an Kaninchen durch Vergiftung mit Methylalkohol (Birch-Hirschfeld[84]).

Durch Einspritzung von $^1/_2{}^0/_0$iger Kochsalzlösung (lauwarm) in die Subarachnoidealräume des Gehirns unter konstantem Druck (40—140 Mm. Hg) lassen sich die der Entwicklung einer Stauungspapille vorangehenden Cirkulationsstörungen künstlich erzeugen. Siehe auch Deutschmann.[85])

Injicirt man in den Glaskörper des einen Auges Aufschwemmungen von Kulturen von Aspergillus fumigatus oder Krotonöl (Deutschmann) oder Jequirityinfus (Alt[86]), so erhält man Papillitis am zweiten Auge und entzündliche Veränderungen in beiden Sehnerven und im Chiasma.

Die Untersuchung der Myxome, Myxofibrome, Myxoneurofibrome des Sehnerven, die nach Emanuel[87]) dem Fibroma molluscum, den elephantiastischen, plexiformen Fibromen gleichzustellen sind, erfolgt nach den allgemein üblichen Methoden.

Untersuchung des Faserverlaufes im Chiasma an Horizontal- und Frontalschnitten[88, 89]).

Ramon y Cajal gelang es mittels der Ehrlich'schen Methode, Bifurkationen (Anastomosirungen) der Optikusfasern im Chiasma von Kaninchen nachzuweisen, ebenso bei Katzen mit Golgi's Methode. Dagegen ist es im Gebiet des Thalamus opticus des Menschen Bernheimer[88]) nicht gelungen, mit der letzteren befriedigende Resultate zu erhalten.

XII. Augenhöhle. Die Untersuchung der Augenmuskelnerven bedingt keine Besonderheiten.

Durch Injektion des Tenon'schen, bezw. supravaginalen Lymphraumes lässt sich dessen Kommunikation mit den Glandulae faciales profundae, welche auf dem hinteren Theil des Musc. buccinator und der Seitenwand des Pharynx liegen, erweisen.[34])

Zum Nachweis degenerativer Veränderungen im Ganglion ciliare (nach Exenteratio bulbi) bediente sich BACH[92]) der Doppelfärbung mit Thionin-Erythrosin.

Die Fasern des Oculomotorius für Ciliar- und Irismuskulatur reichen peripherwärts nur bis zum Ganglion ciliare; Weiterleitung durch sympathische Fasern (BACH[92]), v. MICHEL[90]), G. RETZIUS[91]).

Darstellung der nervösen Elemente des Ganglion ciliare im normalen Zustand nach GOLGI's Verfahren (G. RETZIUS, v. MICHEL).

XIII. Pigmente, Fremdkörper und Parasiten. Das normale Augenpigment ist bekanntlich schwefel- und eisenfrei. Ueber den Eisengehalt der Melanosarkome sind die Ansichten getheilt. Jedenfalls ist derselbe auf die im Sarkomgewebe neben den eigentlichen Pigmentkörnern vorhandenen gelben Körner, die von zerfallenen Blutmassen abstammen, zu beziehen, was ganz besonders deshalb zu beachten ist, weil gerade die Sarkome des Auges sich so ausserordentlich häufig nach mit Extravasaten einhergehenden Traumen entwickeln, wie Verf. an drei in kurzer Zeit beobachteten Fällen konstatiren konnte.[93])

Um die bei einer mikrochemischen Untersuchung auf Eisengehalt sich abspielenden Vorgänge auseinanderhalten zu können, sei daran erinnert, dass nach E. NEUMANN's Entdeckung extravasirtes Blut, je nachdem es unter dem Einfluss lebender Zellen der Umgebung steht oder nicht, Hämosiderin oder eisenfreies Hämatoidin liefert, ferner dass der Eisengehalt des Hämosiderins Veränderungen unterliegt, insofern als er nach mehr weniger langer Zeit verschwinden kann. Bei der Beurtheilung der Resultate einer auf den Nachweis von Eisen gerichteten mikrochemischen Analyse ist daher zu berücksichtigen:

1. dass der negative Ausfall gegen die Bildung gewisser Pigmentarten aus dem Hämoglobin des Blutes nichts beweist, einmal weil der Eisengehalt bereits verschwunden sein kann (E. NEUMANN, M. SCHMIDT), zweitens weil das Eisen Verbindungen mit Eiweissstoffen oder anderen Substanzen eingegangen sein kann, in denen sich das Eisen dem Nachweis durch die betreffende Methode entzieht (SCHMORL).

2. Bei positivem Ausfall, inwieweit zu diesem etwa aus gleichzeitig vorhandenen Extravasaten oder intravaskulär in Thromben abgestorbenem Blut herstammende Eisensalze (Hämosiderine) betheiligt sind. Die Verwerthung einer positiv ausgefallenen Reaktion für die Diagnose einer penetrirenden Eisensplitterverletzung mit Zurücklassung des Fremdkörpers ist dann zulässig, wenn die in dem Präparat vorhandenen Blutextravasate, bezw. die aus dem Blut stammenden Zerfallsprodukte, soweit ihre Provenienz erkennbar ist, die Eisenreaktion nicht geben (E. v. HIPPEL[94]). Ueber den Einfluss von Eisensplittern im Fundus auf die Netzhaut siehe LEBER[95]) und v. HIPPEL.[96])

Zum Nachweis von Eisen dienen folgende Methoden:

1. Das Verfahren nach PERLS, darauf beruhend, dass die Eisenverbindung des Präparates durch Einlegen in Salzsäure in ein salzsaures Ferrisalz umgewandelt wird, welches mit Ferrocyankalium die bekannte Berlinerblaureaktion giebt. Berlinerblau ist in Salzsäure unlöslich, während es in Alkalien zersetzt wird. Es sind deshalb bei der Nachfärbung alkalische Reagentien zu vermeiden, bezw. nur vor Anstellung der Reaktion zu brauchen.

Der Vorgang ist also folgender: *a)* beliebige Kernfärbung der Schnitte, *b)* gründliches Auswaschen behufs Entfernung basischer Verbindungen, *c)* Einlegen in 1—2%iges Ferrocyankalium, 2—3 Minuten, *d)* darauf in ½%iges Acid. muriat. bis zur maximalen Blaufärbung, *e)* Auswässern in neutralem Alkohol, Aufhellen, Balsam. Spuren von Eisenoxydul verursachen eine blaugrüne Färbung.

2. Die Schwefelammoniummethode nach QUINCKE.

Schwefelammonium fällt aus Ferro- und Ferrisalzen schwarzes Schwefeleisen (Fe S). Sind nur Spuren vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit, bezw. das Präparat schwärzlich grün. *a)* Beliebige Kernfärbung der Schnitte. *b)* Einlegen in frisches Schwefelammonium auf ca. 10 Minuten, bezw. bis zu maximaler Bildung von Schwefeleisen. *c)* Rasches Abspülen, Entwässern in Alkohol, Bergamotteöl, Balsam. Schwefeleisen ist in Säuren löslich.

HALL giebt eine komplicirte Methode mit Schwefelammonium an, bei der jedoch nur Paraffinschnitte in Betracht kommen, vergl. SCHMORL.[97])

In das Auge gelangtes Eisen verwandelt sich unter dem Einfluss der Kohlensäure zunächst in kohlensaures Eisenoxydul ($FeCO_3$), dann durch weitere Oxydation in körniges Eisenoxydhydrat $Fe(OH)_3$, das sich besonders in der Umgebung des Fremdkörpers ablagert (Rost); isolirter Nachweis des letzteren, durch Einlegen in Gerbsäure (2%, schwarz-

blaue Fällung) oder in Rhodankalium [CN (SK)] 1%, (blutrothe, in Salzsäure unlösliche Färbung). Ausserdem verbindet sich das Eisen mit den Eiweissstoffen zu krystallinischen Eisenalbuminaten, die nach Leber[95]) folgende Reaktionen geben:

1. Resistenz gegen Kalilauge, Essigsäure, verdünnte Salpetersäure;
2. Färbung mit Jodviolett und Hämatoxylin;
3. Starke Berlinerblaureaktion.

Einbringen von Eisen in die Vorderkammer und in den Glaskörper zum Studium der je nach der Applikationsstelle ausserordentlich verschiedenen Wirkung (Leber[95]), pag. 220).

Nachweis von Kupfer und Messing durch Perl's Eisennachweisungsmethode oder auch durch Behandlung mit kalter Schwefelammoniumlösung, wobei schwarzbraunes Schwefelkupfer (CuS) gefällt wird.

Parasiten. Von den Parasiten des menschlichen Auges (Phthirius inguinalis, seltener Phthirius capitis, Demodex folliculorum, Filaria Loa, Filaria Kuhntii, Echinococcus, Cysticercus cellulosae) giebt eigentlich nur der Cysticercus Veranlassung zu mikroskopischen Untersuchungen.

Insbesondere kann es in späten Stadien, in denen von einem Cysticercus vielleicht nur noch die Chitinhaken übrig geblieben sind, und die Ursache einer Iridocyklitis, eiterigen Iridochorioiditis oder Phthisis bulbi dunkel ist, wichtig sein, diese Chitinhaken neben dem Befund von Riesenzellen (Fremdkörperriesenzellen), Verkalkung und Neubildung von osteoidem Gewebe nachzuweisen. Färbung des Chitin, eventuell nach vorheriger Entkalkung des Gewebes, nach Bethe.[88])

XIV. Herstellung von makroskopischen Dauerpräparaten zu Demonstrationszwecken. Nach dem Verfahren von Tschemolossow[89]):

1. Das frisch enukleirte Auge wird in 5%iger Formollösung beliebig lange aufgehoben.

2. Man lässt das Auge in einer Kältemischung von Kochsalz und fein gestossenem Eis (oder Schnee) gleichmässig hart frieren und schneidet es mit einem starken, keilförmigen Rasiermesser in der gewünschten Richtung in zwei gleiche Hälften.

3. Die zur Aufhebung in Gelatine bestimmte Hälfte des Auges kommt successive in Lösungen von Chloralhydrat 5% und Glycerin 15%, 25% und 50%. In jeder dieser Lösungen bleibt sie in der Regel 24 Stunden, eventuell auch länger, jedenfalls aber solange, bis sie darin zu Boden sinkt.

4. Die Gelatine wird hergestellt durch gründliches Kochen von 1 Th. feinster Gelatine in 8 Th. Wasser und 8 Th. Glycerin unter Zusatz von Eiweiss (2 Eier auf 1 Liter Mischung). Die so bereitete Glycerin-Gelatine wird sorgfältig durch Fliesspapier filtrirt; zum Gebrauch wird sie im warmen Wasserbade bis zu dünnflüssigem Zustande erwärmt und in den bereit gehaltenen Glasnapf, der das Präparat aufnehmen soll, bis zur halben Höhe des letzteren gefüllt.

5. Die zur Einbettung in die Gelatine bestimmte Hälfte des Auges wird mit der Schnittfläche nach oben in die flüssige Gelatine versenkt und unter deren Oberfläche vorsichtig, mit Vermeidung von Luftblasen, umgekippt. Hat das Präparat die Neigung, in der Gelatine aufzusteigen, so wird es bis zum Erstarren der letzteren mit einer feinen Nadel zu Boden gedrückt.

6. Nachdem die Gelatine erstarrt ist, wird der Glasnapf von oben durch einen aufgeschliffenen Glasdeckel mittels Kanadabalsam luftdicht verschlossen.

Litteratur: 1) Joseph und Löwenbach (Dermato-histolog. Technik, 1900), 2) Lee und Mayer (Grundzüge, 1898, pag. 295), 3) Ranvier (Technisches Lehrbuch, pag. 814), 4) Schweigger-Seydel (Virch. Arch., Bd. 37, 1866), 5) E. Fuchs (Arch. Ophth, Bd. 37, 1891), 6) Lewinsohn (Bericht 27. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1901), 7) Gurwitsch (Arch. Ophth., Bd 29, 1883), 8) Grunert (Ber. 27. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1901), 9) Posner (Virchow's Arch., Bd. 79, 1880), 10) Krämer (Graefe-Sämisch, Handb. d. Augenhlkd., 2. Aufl.), 11) Leber und Wagenmann (Arch. Ophth., Bd. 34, 1888), 12) Schanz (Berl. klin. Woch., 1897), 13) Uhthoff (Samml. zwangl. Abh. a. d. Geb. d. Augenhlk., Halle 1898), 14) Weeks (Arch. of Ophthalm., Bd. 15), 15) Kastalsky (C. r. Congr. int. d. Med. à Moscou, Bd. 6), 16) Axenfeld (Ber. 26. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1900), 17) Greeff (Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung des Auges, 2. Aufl., 1901), 18) Deyl (C. r. congr. int. Méd. Moscou, Bd. 6, 1901), 19) Seligmann (Die mikroskopischen Untersuchungsmethoden des Auges, pag. 5, Berlin 1899), 20) Lee und Mayer (a. a. O., pag. 58), 21) Greeff (a. a. O.), 22) Lee und Mayer (a. a. O., pag. 106), 23) Waldeyer (Graefe-Sämisch, Handbuch f. Augenhlk., 1. Aufl., Bd. 1), 24) Ranvier (a. a. O, pag. 800), 25) Waldeyer (a. a. O., pag. 471), 26) Altmann (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1879), 27) Rollet (Stricker's Handbuch der Gewebelehre, 2. Bd., pag. 1127), 28) Graefe-Sämisch (Handbuch der Augenheilk., 1. Aufl., 1. Bd., pag. 204), 29) Preiss (Virch. Arch., Bd. 87, 1882), 30) Launer (Anat. Hefte, Bd. 59, 1901), 31) E. v. Hippel (Ber. 26. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1900), 32) E. Fuchs (Graefe's Arch., Bd. 37, III), 33) E. v. Hippel (Ber. 27. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1901); 34) J. v. Michel (Lehrbuch der Augenhlk., 1890), 35) Leber (Entstehung der Entzündung, 1889), 36) Hertel (Ber. 27. Vers. Heidelb. ophth.

Ges., 1901), [37]) H. Sattler (Arch. mikr. Anat., 1896 und Ber. 22. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1896), [38]) J. v. Michel (Arch. Ophth., Bd. 29, 2), [39]) E. Fuchs (ebenda, Bd. 31, 3), [40]) E. Sattler (ebenda, Bd. 22, II), [41]) Stricker (Handbuch der Gewebelehre, Bd. 2, pag. 1037, 38), [42]) H. Müller (Gesammelte Schriften, Leipzig 1872, pag. 236), [43]) Schwalbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 6, 1870), [44]) F. E. Schultze (ebenda, Bd. 3, 1867), [45]) Graefe-Sämisch (Handbuch der Augenhlk., 1. Aufl., Bd. 1), [46]) J. v. Michel (Lehrbuch der Augenhlk., 1890, pag. 401), [47]) Best (Ber. 27. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1901), [48]) C. Rabl (Zeit. wiss. Zool., Bd. 63 und 65), [49]) C. Becker (Zur Anatomie der gesunden und kranken Linse, 1883), [50]) O. Schirmer (Arch. Ophth., Bd. 35), [51]) Chittenden (Unters. phys. Inst. Heidelb. 1880, Bd. 3), [52]) Kortneff (Arch. d'Ophth., 1893), [53]) P. Schultze (Graefe-Sämisch, Handbuch der Augenhlk., 2. Aufl.), [54]) Agababow (Arch. mikr. Anatomie, Bd. 50, 1897), [55]) H. Virchow (Ergebnisse, Bd. 10. 1900), [56]) Haensell (Bull. de la clinique ophthalmique, 1886), [57]) G. Retzius (Biolog. Unters., N. F., Bd. 6, pag. 78), [58]) Tornotola (C. r. congr. int. Med. Moscou, Bd. 6, pag. 200), [59]) H. Kühne (Unters. phys. Inst. Heidelb., 1880, III), [60]) Schiefferdecker (Arch. mikr. Anat., Bd. 28), [61]) R. Hess (Zeit. wiss. Zool., Bd. 65), [62]) Birnbacher (Verh. deutsch. Naturf., 1894), [63]) Birch-Hirschfeld (Arch. Ophth., Bd. 50, I, 1900), [64]) Schwalbe (Graefe-Sämisch, Handb. d. Augenhlk., 1. Aufl., I), [65]) J. v. Michel (Festschr. C. Ludwig, Leipzig 1874), [66]) Kronthal (Neurol. Centr., 1895), [67]) Greeff (Graefe-Sämisch, Handbuch der Augenhlk., 2. Aufl., I. Th., Bd. 1), [68]) Widmark (Beitr. z. Ophthalm., Leipzig 1891), [69]) Hertel (Ber. 24. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1898), [70]) A. Fränkel (Virch. Arch., Bd. 67, 1876), [71]) Hertel (Ber. 26. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1900), [72]) derselbe (Zehender's klin. Monatsbl., Jg. 35), [73]) Greeff (Ber. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1895), [74]) Dimmer (Ber. 27. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1901), [75]) J. v. Michel (Arch. Ophth., Bd. 18, I), [76]) Leuckart (Graefe-Sämisch, Handbuch der Augenhlk., 1. Aufl., Bd. 2), [77]) Key und Retzius (Jahresbericht von Virchow-Hirsch 1870), [78]) Ranvier (a. a. O., pag. 904), [79]) Schwalbe (Ber. Sächs. Ges. Wiss., 1872), [80]) Key und Retzius (Stockholm 1875), [81]) H. Schmidt (Arch. Ophth., Bd. 15, 2, 1869), [82]) Wolfring (ebenda, Bd. 18, 2), [83]) Pflüger (Ber. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1882), [84]) Birch-Hirschfeld (Ber. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1900), [85]) Deutschmann (Ueber Neuritis optica, Jena 1897), [86]) Alt (Amer. Journ. ophthalmol., pag. 28, 1884), [87]) Emmanuel (Ber. 27. Vers. Heidelb. ophth. Ges, 1901), [88]) Bernheimer (Graefe-Sämisch, Handb. f. Augenhlk., 2. Aufl., I. Th., Bd. 1), [89]) Dimmer (Ber. Vers. Heidelb. ophth. Ges., 1898), [90]) v. Michel (Edinburger Congress-Bericht 1894), [91]) G. Retzius (Biol. Unters., N. F., Bd. 6, pag. 37), [92]) Bach (Arch Ophth., Bd. 47, 3), [93]) Herzog (Klinischer Jahresbericht, 1896), [94]) E. v. Hippel (Arch. Ophth., Bd. 40, 1), [95]) Leber (Entstehung der Entzündung, pag. 236), [96]) E. v. Hippel (Arch. Ophth., Bd. 42), [97]) Schmorl (Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden, 97, pag. 73), [98]) Bethe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12), [99]) Blessig (C. r. Congr. int. Méd. Moscou, Bd. 6, pag. 299), [100]) Smirnow (Arch. Ophthalmol., Bd. 50, 1900), [101]) Rabl (Morph. Jahrb., Bd. 15, 1889).

H. Herzog, Berlin.

Sehne. Zur Fixation der Sehne eignet sich neben Alkohol vor allen Dingen Pikrinsublimat (Retterer) und Osmiumsäure. Ranvier empfiehlt die letztere auch zur interstitiellen Injektion in die Sehnensubstanz. Um Quer- und Längsschnitte anzufertigen, bettet man am besten in Celloidin ein. Die alte Methode, getrocknete Sehnen grösserer Thiere (Kalb) zu Querschnitten zu benutzen, liefert ebenfalls ganz gute Bilder.

Als Macerationsflüssigkeiten für die Sehne zur Darstellung der Fibrillen und Fibrillenbündel leisten Müller'sche Flüssigkeit, Barytwasser, Kalkwasser gute Dienste.

Um ganz dünne Sehnen zur Beobachtung im lebenden Zustand zu gewinnen, schneidet man den Schwanz einer weissen Maus oder Ratte in mehrere Stücke. Man kann dann die dünnen Sehnen mit einer Pincette leicht zwischen Haut und Knochen herausziehen. Auch die kleinen, dünnen Sehnchen an den Zehen der Froschpfote geben sehr gute Bilder.

Zur Darstellung der Sehnenzellen eignet sich die Maceration solcher dünner Sehnen in Alaunkarmin (Dogiel), Böhmer'schem Hämatoxylin oder karminsaurem (1—2%) Natron vorzüglich. Man kann sie in diesen Flüssigkeiten wochenund monatelang liegen lassen und untersucht in Glycerin. Auch Vergoldung nach Löwit giebt oft gute Bilder. Ranvier empfiehlt zu demselben Zweck 24stündige Fixation in 1%iger Osmiumsäure, färben ebenso lang in Pikrokarmin und Untersuchung in Glycerin mit 1% Ameisensäure.

Das die sekundären Bündel umgebende Endothel kann man durch Versilberung dünner Sehnen deutlich machen. Man erhält dann auch gleichzeitig negative Bilder der Sehnenkörperchen.

Zur Darstellung der Sehnennerven und der nervösen Endkörperchen eignen sich die verschiedenen Goldmethoden, Goldchlorid-Arsensäure (GOLGI und MARCHI siehe pag. 454), ähnlich auch CATTANEO (siehe pag. 458); CIACCIO bringt Amphibiensehnen bis zum Durchsichtigwerden in 0,1%ige Salzsäure oder in 0,2%ige Essigsäure, dann 5 Minuten in 1‰iges Goldchloridkalium, dann wieder 24 Stunden im Dunkeln in die Säure und 2—4 Stunden in die Sonne. Sind sie violett geworden, so kommen sie auf 24 Stunden in 0,1%ige Osmiumsäure und werden in mit etwas Ameisensäure versetztem Glycerin aufbewahrt.

Litteratur: RETTERER (C. r. Soc. Biol [10], Bd. 5, 1898), RANVIER (Technisches Lehrbuch), BEHRENS, KOSSEL u. SCHIEFFERDECKER (Gewebelehre, I. Abth., Braunschweig 1891), DOGIEL (Anat. Anz., Bd. 2, 1887), GOLGI (Mem. Real. Acc. Sc. Torino, Bd. 32, 1880), MARCHI (Arch. per le Sc. med., Bd. 5, 1882), CATTANEO (Arch. ital. Biol., Bd. 10, 1888), CIACCIO (Mem. Real. Acc. Sc. Bologna [4], Bd. 10, 1890).

Seife siehe Glycerinseife, Natronseife und Paraffin.

Seignettesalz siehe Kalium-Natriumtartrat.

Sekretgranula siehe Drüsen.

Serum siehe Blutserum.

Siebröhren der Pflanzen. Die eiweissleitenden Elemente der Pflanzen können mit normaler Vertheilung des Inhalts nur studirt werden, wenn unverletzte, mit der Mutterpflanze in Verbindung stehende Sprossen durch etwa 5 Minuten langes Eintauchen in siedendes Wasser getödtet werden. So fixirtes Material wird entweder direkt untersucht oder noch in Alkohol gehärtet. Während so behandeltes Material die ganzen Siebröhren mit feinkörnigem Inhalt erfüllt zeigt, enthalten die in Alkohol oder einer anderen Fixirungsflüssigkeit fixirten Präparate einen Schleimfaden in der Längsrichtung ausgespannt, der sich nach den Siebplatten zu erheblich verdickt. Ueber die Färbung der callushaltigen Siebplatten und Doppelfärbungen vergl. Zellmembrane, pflanzliche: Callose.

Litteratur: ALFR. FISCHER (Ber. deutsch. bot. Ges. 1885 u. 1886). *Magnus*, Berlin.

Silbermethoden. I. Eigenschaften der in der mikroskopischen Technik gebräuchlichen Silberverbindungen. 1. Argentum nitricum, Silbernitrat, salpetersaures Silber, Höllenstein, $AgNO_3$ wird dargestellt durch Lösen von Silber in verdünnter Salpetersäure. Das Salz bildet farblose Tafeln des rhombischen Systems vom spec. Gewicht 4,32—4,35. Schmelzpunkt 189°. Im Handel meist in Form von weissen, glänzenden oder grauweissen Stäbchen (Lapis infernalis) erhältlich. Höllenstein ist sehr leicht in Wasser löslich; es lösen 100 Theile Wasser bei 0° 121,9, bei 19,5° 227,3, bei 54° 500, bei 85° 714,0, bei 110° 1111 $AgNO_3$. Die wässerige Lösung reagirt neutral; Salzsäure fällt schon aus sehr verdünnten Lösungen weisses, in Ammoniak lösliches, in Salpetersäure unlösliches Chlorsilber, Schwefelwasserstoff schwarzes Schwefelsilber. Auch in Alkohol und Aether ist das Salz löslich; 1 Theil löst sich in 4 Theilen Weingeist.

Argentum nitricum zeichnet sich durch seine leichte Reducirbarkeit aus, besonders organischen Substanzen gegenüber; ferner wird es von den meisten Metallen reducirt. In reinem Zustand ist es dem Licht gegenüber absolut beständig, so dass es nicht nöthig ist, das Salz oder seine Lösungen in dunklen Flaschen aufzubewahren. Dagegen werden organische Stoffe durch Silbernitrat, dem Lichte ausgesetzt, geschwärzt.

Das Salz findet für photographische Zwecke Verwendung, indem Lösungen von salpetersaurem Silber als Positivbäder, sowie im Kollodiumverfahren als sogenannte Negativsilberbäder dienen. In der praktischen Medicin wird es äusserlich und innerlich angewandt.

2. Argentum jodatum, Silberjodid, Jodsilber, $Ag\,J$, schweres, hellgelbes Pulver vom spec. Gewicht 5,67 bei 0°, in Wasser und Alkohol unlöslich, in Ammoniak schwer löslich, leicht löslich dagegen in Jodwasserstoffsäure, in koncentrirten Lösungen von Alkali- und Erdalkalijodiden. Im direkten Sonnenlicht wird reines Jodsilber nicht verändert, dagegen wenn es in einer Kollodiumschicht oder in einem ähnlichen Medium fein vertheilt ist. Jodsilber hat in der praktischen Photographie ausgedehnte Verwendung gefunden.

3. Argentum lacticum, Aktol s. pag. 9.

4. Argentum citricum, citronensaures Silber, Itrol, $C_6\,H_5\,O_7\text{-}Ag_3$, in Wasser schwer, in Ammoniak leichter lösliches Pulver, auch in der praktischen Medicin angewandt.

5. Silberacetat, essigsaures Silber, $C_2\,H_3\,O_2\text{-}Ag$, weisse, perlmutterglänzende Blättchen oder Nadeln vom spec. Gewicht 3,128 bei 15°, in 98 Theilen kalten Wassers bei 14° löslich.

6. Silberpikrat, pikrinsaures Silber, $C_6\,H_2\,(NO_2)_3\,O\,Ag + \frac{1}{2}\,H_2O + 1\,H_2O$, feine, glänzende Nädelchen, die in 170 Theilen Wasser von 6° löslich sind.

7. Argentamin s. pag. 50.

II. Uebersicht über die histologischen und bakteriologischen Silbermethoden. Aus Gründen der Uebersichtlichkeit wird es am zweckmässigsten sein, die Besprechung der in der mikroskopischen Technik bisher angewandten Silbermethoden in der Weise vorzunehmen, dass wir unterscheiden wollen zwischen Silbermethoden am nicht fixirten und denen am fixirten Objekte. Zu den ersteren würden auch die Injektionen von Silbersalzlösungen zum Zwecke der Gefässuntersuchung, zu den letzteren auch die GOLGI'sche Methode gehören. Da indessen beiden Untersuchungsmethoden besondere Kapitel in diesem Buche gewidmet sind, genügt es, an dieser Stelle auf die betreffenden Aufsätze (Injektion der Blut- und Lymphgefässe pag. 594 u. 611, GOLGI'sche Methode pag. 464, Knochen u. Zähne pag. 667) zu verweisen. Anhangsweise werden dann die bakteriologischen Silbermethoden zu erwähnen sein.

a) Silbermethoden am nicht fixirten Objekte. Der erste Autor, der eine Silbermethode angewandt und damit überhaupt ein neues Princip in die histologische Technik, das der Metallimprägnation, eingeführt hat, war KRAUSE im Jahre 1844. Es hat sicherlich auch heute noch Interesse, den Autor selbst zu hören — zumal da neuerdings L. LANDOIS in einem Aufsatz über die Geschichte der Metallimprägnation (Arch. mikr. Anat., 1902, Bd. 61) des KRAUSE'schen Antheils an der Entwicklung dieser Methode nicht Erwähnung thut. KRAUSE schreibt: »Legt man ein Stück dicke Epidermis in eine Anflösung von salpetersaurem Silber bis zur vollständigen Durchdringung und setzt es dem Lichte aus, so färben sich die freien Flächen braunschwarz, und trägt man diese ab, so findet man das Innere des Oberhautstückes noch von weisser Farbe; aus Schnittchen dieser scheinbar unveränderten Epidermissubstanz kann mit Wasser ein durch Salzsäure fällbarer Auszug nicht mehr erhalten werden. Die Schnittchen schwärzen sich aber im Lichte; an ihnen zeigt sich unter dem Mikroskope und bei Behandlung mit Essigsäure das Gewebe der Epidermis ganz unverändert, nur sieht man an der Aussenseite der grösseren Zellen, besonders da wo sie zusammenstossen, sehr dunkle Körnchen von $\frac{1}{1500}$—$\frac{1}{1000}$''' Durchmesser, ohne Zweifel Chlorsilber und reducirtes Silber. Behandelt man die Schnittchen, bevor sie sich völlig geschwärzt haben, mit kaustischem Ammoniak, so erhält man in diesen die bekannte Reaktion auf Salzsäure und die Ablagerung zwischen den Zellen erscheint geringer an Masse. Die Ablagerung ist überhaupt am stärksten in der tiefen Schicht der Epidermis und in den Ausführungsgängen der Schweissdrüsen, zeigt sich aber auch an der Hornschicht und ist hier feinkörniger. Bei der Färbung der Epidermis durch

lange fortgesetzten inneren Gebrauch des Höllensteins wird vermuthlich ein Silbersalz bis in das Cytoblastem der tiefen Schicht und die die Epidermis durchdringende Flüssigkeit geführt und hier durch das Licht verändert.«

Und weiter heisst es (pag. 156): »Bemerkenswerth ist, dass die Auflösung des salpetersauren Silbers die in ihr eingeweichte Epidermis in ihrer ganzen Dicke durchdringt, die des salpetersauren Kali aber nicht; es lässt sich nur daraus erklären, dass die Epidermissubstanz das Silber aus seiner Verbindung mit der Salpetersäure ausscheidet, so dass diese frei wird und bei ihrem allmählichen tieferen Eindringen in die Masse der Oberhaut auch den noch unzersetzten Antheilen der Solution den Weg zwischen die Epidermiszellen bahnt.«

Das Verdienst, die Silberbehandlung dann weiterhin zu einer anatomischen Methode gemacht zu haben, gebührt v. Recklinghausen (1860). Allerdings hatten schon einige Jahre vorher Flinzer bei Coccius (1854) und His (1856) durch Aetzung der Kornea Niederschläge in derselben hervorgerufen. Aber v. Recklinghausen hat, wie er ausdrücklich (1863) hervorhebt, die Silberbehandlung zu einer anatomischen Methode dadurch gemacht, »dass er einerseits äusserst schwache Silberlösungen angewandt habe, andererseits nicht in situ die thierischen Theile behandelt oder wenigstens das Epithel vorher entfernt habe«. So erhielt er Bilder, die ihn zur Empfehlung des Silbers als einer Methode zur Sichtbarmachung der Kittsubstanz zwischen Endo- und Epithelien, sowie der bindegewebigen Grundsubstanz berechtigte.

In der ersten Arbeit v. Recklinghausen's aus dem Jahre 1860, betitelt: »Eine Methode, mikroskopisch hohle und solide Gebilde von einander zu unterscheiden«, heisst es: »Legt man frische oder besser noch getrocknete thierische Theile in schwache Lösungen von Höllenstein, bringt sie dann in eine dünne Kochsalzlösung und setzt sie hierauf der Einwirkung des Lichtes aus, so erhält man einen feinen, dichten, schwarzen Silberniederschlag in denjenigen Theilen, welche wesentlich wässerige Lösungen enthalten, wohingegen solidere Substanzen (Intercellularsubstanzen) nur zerstreutere Körner oder eine diffuse Färbung zeigen, ja fast unverändert bleiben können.« — Die Lösungen, die v. Recklinghausen anwandte, waren 1 : 400—500.

Tommasi, der die Lymphgefässe des Hodens auf Veranlassung v. Recklinghausen's untersuchte (1863), führt die Rasirmesserschnitte in einer Silberlösung von 1 : 400 hin und her, höchstens eine Minute, hebt sie in konc. Essigsäure auf, nachdem ihm ein Theil des Wassers durch 24stündiges Liegen in starkem Alkohol entzogen ist; später werden die Präparate unter Abschluss des Lichtes in Glycerin oder Chlorcalcium aufbewahrt.

Im Jahre 1864 machte Frommann die Beobachtung, dass Axencylinder unter Einwirkung von Höllenstein dunkle Querstreifen zeigen — Linien, die heute allgemein nach ihrem Entdecker benannt werden.

Müller (1867) untersucht die Hornhaut durch Behandlung mit Silbersalpeter, verbunden mit einer nachträglicben Behandlung in Jodsilber. W. Reissig hatte gefunden, dass Silbersalpeter in Verbindung mit Jodsilber dem Lichte ausgesetzt, einen gelben Niederschlag erzeuge. Auf Veranlassung von Eberth probirte er das Verfahren und hatte gute Erfolge bei der Behandlung der Lymphgefässe, der Epithelzeichnung der Gefässe, der intra- und extracellulären Zeichnung der Kornea; hierbei blieben die Kerne unversehrt, ein Vortheil gegen die einfache Silbermethode. Die Objekte wurden im Dunkeln in eine 1%ige Höllensteinlösung 2—3 Minuten gelegt, hierauf wurde eine kleine Quantität 1%ige Jodsilberlösung (chemisch rein, mit einer geringen Menge Jodkalium aufgelöst) zu der Höllensteinlösung gegossen, das Präparat mehrmals in der gelbgefärbten Flüssigkeit hin- und her geschwenkt, in dest. Wasser abgewaschen, dann in einer 1‰igen Höllensteinlösung mehrere Tage lang dem Lichte ausgesetzt und in Alkohol gehärtet.

Ranvier (1868) legt das ganze Auge in eine 1‰ige Silbernitratlösung, bis es undurchsichtig wird, entfernt das Epithel, wäscht im destillirten Wasser, setzt es dem Sonnenlicht aus, wäscht dann mit einer 1‰igen Goldchloridlösung und untersucht in Glycerin. Es ist dies also die Kombination einer Silber- und einer Goldmethode.

Legros (1868) bringt die Objekte, um das Nachdunkeln zu verhüten, in eine Lösung von unterschwefeligsaurem Natron, und zwar nur für kurze Zeit; dann wird in Wasser ausgewaschen.

Robinski (1869) verwendet Lösungen von 1 : 500—1 : 1000, in denen er die Gewebe $^1/_2$ Minute lang dem Licht aussetzt.

Rouget (1873) bringt die Gewebe wiederholt 3—5 Sekunden lang in eine Lösung 1 : 750—1000, wobei er jedesmal vorher mit Wasser abspült; die Präparate werden in Glycerin gebracht und dem Lichte ausgesetzt. Dann kommen die Präparate noch 2—3 Stunden in eine Mischung von Ammoniakkarmin, Glycerin und Alkohol. Auf diese Weise sollen Zellgrenzen und Zellsubstanz gleich nach der Silberbehandlung deutlich erscheinen.

Von Eberth (1874) wird die Silberbehandlung mit Hämatoxylinfärbung kombinirt. Bei seinen Untersuchungen über die Entzündung der Kornea legt er diese zuerst in eine 0,5—1%ige Höllensteinlösung, wäscht aus und färbt dann 1—3 Stunden lang mit Hämatoxylin.

Während die bisher erwähnten Autoren sich des Höllensteins bedienten, zieht Alférow (1874) organische Silbersalze vor; er verwendet Silberpikrat, -acetat, -citrat und besonders -laktat in einer Lösung von 1 : 800, wobei je 10—15 Tropfen der freien Säure zugefügt werden.

Im Jahre 1875 giebt dann Ranvier in seinem Lehrbuch der Histologie ausführliche Vorschriften über die Silberbehandlung. Er nennt die Silberimprägnation ein Verfahren, das bei richtiger Anwendung die besten Resultate gebe. Das Silbernitrat könne entweder in Lösung oder — seltener — in Substanz angewandt werden.

Die Anwendung des festen Silbernitrats kann für die Kornea und das Bindegewebe, dagegen nicht für das Epithel statthaben. Für die Kornea z. B. verfährt man folgendermassen: Ist das Auge herausgenommen, so fährt man mit einem Stück Höllenstein schnell über die vordere Fläche der Membran in situ. Die Kornea wird losgetrennt und in destillirtes Wasser gelegt; das Epithel wird mit dem Pinsel entfernt. Das Silbernitrat wird von der die Kornea tränkenden Gewebsflüssigkeit gelöst, durchsetzt die Epithelschicht und reducirt sich in dem fibrillären Gewebe, das nach Einwirkung des Lichtes gefärbt wird. Die Zellen dagegen werden von dem Silber verschont und bleiben ungefärbt.

Bei der Anwendung des Silbernitrats in Lösung müssen eine Anzahl Vorsichtsmassregeln gebraucht werden. So muss z. B. eine Membran wie das Netz über den Rand einer Porzellanschale ausgespannt werden, dann muss sie zur Entfernung von Albuminaten und von Blut mit Wasser abgespült werden, worauf man sie in direktem Sonnenlicht oder wenigstens bei sehr hellem Licht mit einer Silbernitratlösung 1 : 300—1 : 500 bespült, und zwar unter beständiger Bewegung. Sowie das Gewebe weiss wird und dann einen schwärzlich-grauen Ton bekommt, wird die Membran abgelöst und in destillirtes Wasser gebracht, um sie gut auszuwaschen. Dann wird das Objekt auf einen Objektträger gebracht und kann in Glycerin untersucht werden, das gut konservirt, durchsichtig macht und nur die schwarzen Silberlinien hervortreten lässt. Man kann das Präparat auch trocken aufheben. Die Membran wird so auf einen Objektträger ausgespannt, dass das imprägnirte Epithel mit dem Glas in Kontakt tritt. Alsdann wird vor der vollständigen Eintrocknung die Membran mit einer Pincette entfernt. Die Epithelzellen bleiben mit ihrem intercellulären Kitt an dem Objekt-

träger hängen. Bedeckt man mit einem Deckgläschen und umrandet mit Paraffin, so erhält man ein Dauerpräparat. Um in Kanadabalsam aufzubewahren, muss man die Membran, so lange sie noch aufgespannt ist, in gewöhnlichen, hiernach in absoluten Alkohol legen. Nach der Entwässerung bringt man sie auf einen Objektträger, lässt den Alkohol verdunsten, bis die Oberfläche ein mattes Aussehen bekommt. Dann macht man durch einen Tropfen Nelken- oder Terpentinöl durchsichtig, setzt den Kanadabalsam zu und bedeckt mit einem Deckglase. — Es kann auch das mit Silber imprägnirte Gewebe noch mit Goldchlorid in 1°/₀₀iger Lösung behandelt werden (s. oben).

Auf diese Weise sieht man die Zellen durch Linien von einander getrennt, die mehr oder weniger dunkelbraun, resp. bei nachträglicher Goldchloridbehandlung violett gefärbt sind. Zur Sichtbarmachung der Kerne benutzt Ranvier eine Pikrokarminlösung, in der er mehrere Stunden färbt.

Abweichend von dem soeben geschilderten Verfahren kann man nach Ranvier z. B. das Mesenterium des Frosches auch in situ untersuchen.

Durch Anwendung des Silbernitrates bei der Untersuchung der markhaltigen Nervenfasern erhielt Ranvier Einblick in wichtige Einzelheiten ihrer Struktur. Er bringt zwei Verfahren in Anwendung; entweder werden die dünnen Nerven in die Lösung eingetaucht oder die voluminösen Nerven in der Lösung zerzupft. Bei dem ersten Verfahren, das z. B. bei den N. thoracici in Betracht kommt, werden die isolirten Nerven zunächst mit destillirtem Wasser, dann mit einer 3°/₀₀igen Silbernitratlösung bespült, unter deren Einfluss die Nervenfäden starr werden. Sie werden dann an beiden Enden durchschnitten, in die Silberlösung gebracht, in der man sie 5—20 Minuten dem Tageslicht aussetzt, dann in destillirtem Wasser gewaschen und in Wasser oder, wenn sie konservirt werden sollen, in Glycerin untersucht. Auf diese Weise entdeckte Ranvier die nach ihm benannten kleinen Kreuze. — Das zweite Verfahren wendet Ranvier bei voluminösen Nerven, z. B. dem N. ischiadicus der Versuchsthiere, an.

Fourneux und Herrmann (1876) waschen oberflächlich in einer 3°/₀₀igen Silbernitratlösung, bringen die Membranen dann längere Zeit in ein Bad von einer schwächeren Lösung, dann in Alkohol. Ferner schlagen sie die Verwendung künstlichen Lichtes vor.

An Stelle des Silbernitrats verwendet Hoyer (1876) eine Lösung von salpetersaurem Silberammoniak. Er setzt einer Höllensteinlösung von bestimmter Koncentration so viel Ammoniak zu, dass der gefällte Niederschlag sich wieder zu lösen beginnt; die Lösung wird dann so verdünnt. dass sie 0.75—0,5°/₀ Höllenstein enthält.

Eosin und Silber wird von Renaut (1877) kombinirt. Nach der Versilberung färbt er bei der Untersuchung der Sehnenzellen mit Eosin nach.

Besondere Kautschukringe zum Aufspannen der Haut und anderer Objekte werden von G. und F. E. Hoggan (1879) angewandt, die im übrigen die Silber- mit der Goldimprägnation vereinigen.

v. Thanhoffer (1880) betropft die Gewebe nach der Silberbehandlung mit 2°/₀igem essigsauren Wasser unter Belichtung der Objekte; sein Schüler Krauss reducirt in einer hellrothen Lösung von übermangansaurem Kali; ein anderer Schüler Oppitz bringt die Objekte nach der Behandlung mit Silbernitrat in eine ¼—½°/₀ige Lösung von Zinnchlorid, in der die Reduktion schnell stattfindet.

Sattler (1882) verwendet den Höllenstein in Substanz bei der Untersuchung der Epithelien; nachdem die zu untersuchende Fläche bestrichen ist, wird sie in mit Essig- oder Ameisensäure angesäuertem Wasser dem Licht einige Minuten lang ausgesetzt.

Um die Chloride der Seethiere vor der Silberbehandlung zu entfernen, wäscht HARMER (1884) vorher in 3%iger Kalisalpeterlösung in destillirtem Wasser aus; Loxosoma und Pedicellina wurden durch halbstündiges Verweilen in der Lösung nicht getödtet. Thiere, die in dieser Lösung sterben, kommen in $4^1/_2$%ige Lösung von Natriumsulfat. Nach der Versilberung kann mit Osmiumsäure und Pikrokarmin behandelt werden.

Ueber die Darstellung der elastischen Fasern nach MARTINOTTI (1888) siehe pag. 190.

Als beste Methode der Versilberung, bei der die Kerne gut konservirt werden, empfiehlt DEKHUYZEN (1889) Abspülen des Froschmesenteriums nebst Darmschleife in einer 1,3%igen Kalisalpeterlösung, Ueberführen in eine $^1/_4$%ige Silbernitratlösung, die 3% Salpetersäure enthält, für 3—6 Minuten, dann in 3%ige Salpetersäure einige Minuten; in 96%igem Alkohol wird alsdann der Darm abgeschnitten, das Mesenterium wird in Nelkenöl in einem Uhrgläschen, das auf weissem Papier liegend, dem Licht möglichst ausgesetzt ist, einige Minuten gelassen. Die Kerne können dann mit Alaun-Hämatoxylin, Safranin oder Methylgrün gefärbt werden.

Ueber die Behandlung des Peritoneum mit Silbernitrat nach dem Verfahren von KOLOSSOW (1893) vergl. Peritoneum.

GEROTA (1897) wendet bei seinen Untersuchungen über die Anatomie und Physiologie der Harnblase eine Doppelimprägnation mit Silbernitrat und Goldchlorid an. Er reducirt mit einer fixirenden Hydrochinonlösung (je 2 Ccm. einer Lösung A: krystallisirtes schwefelsaures Natrium 10 Grm., destillirtes Wasser 15 Ccm., Hydrochinon 1,5 Grm. und einer Lösung B: Kaliumkarbonat 15 Grm., destillirtes Wasser 150 Ccm. werden mit 10 Theilen Wasser vermischt), bis das Gewebsstück dunkelbraun bis schwarz erscheint; hierauf wird mit Wasser ausgewaschen und 5 Minuten lang in einer Lösung von unterschwefligsaurem Natron fixirt, in Glycerin oder Kanadabalsam eingeschlossen.

GEROTA empfiehlt diese Fixirung mit unterschwefligsaurem Natron vor allem für die mit Silber + Gold behandelten Präparate. Ist die Reduktion zu stark geworden, so kann das Präparat in einer Cyankaliumlösung 1:25 wieder aufgehellt werden.

BERGH (1899) stellt die Zellgrenzen der Blutgefässe der Anneliden durch Versilberung dar. Zunächst wurden einfache Lösungen (Silbernitrat-acetat) benutzt. Die besten Resultate wurden erhalten bei Benutzung einer Mischung gleicher Theile einer 1%igen Lösung von Silbernitrat und einer 1%igen Lösung von Salpetersäure oder des FISCHEL'schen Gemisches, bestehend aus 50 Theilen 1%igen Silbernitrats, 25 Theilen Ameisensäure, 25 Theilen dest. Wassers. Die Objekte blieben längere Zeit, eine Woche oder mehr, im Dunkeln.

SIMARRO (1900) giebt eine neue Untersuchungsmethode des Nervensystems, beruhend auf Imprägnation mit Silbersalzen, an. Diese Methode beruht auf denselben Principien, wie die Photographie bei ihrer Anwendung des Chlor-, Brom- und Jodsilbers. Der Vorgang ist folgender: Zunächst müssen die Gewebe mit einem Brom- oder Jodsalz durchtränkt werden, dann die bromirten oder jodirten Gewebe in eine Silbernitratlösung gebracht werden, so dass sich Brom- oder Jodsilber bildet, nun wird in Celloidin eingebettet und im Dunkeln geschnitten; die Schnitte werden dem Licht ausgesetzt und das Bild durch einen Entwickler, z. B. Pyrogallussäure oder Hydrochinon hervorgerufen; hierauf wird in unterschwefligsaurem Natron fixirt, ausgewaschen, woran sich eine Doppelfärbung mit Karmin, Anilinfarben, Hämatoxylin etc. anschliessen kann; aufgehellt wird in Bergamottöl, Terpentin oder Karbolxylol. Ueber Einzelheiten der Methode ist in der Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk., Bd. 18, 1902, nachzulesen; hier ist nur noch hervorzuheben, dass die Injektion des Brom- oder Jodsalzes tagelang fortgesetzt wurde.*

* Es darf vielleicht an dieser Stelle erwähnt werden, dass Referent vor einigen Jahren ähnliche Versuche vorgenommen hat im Anschluss an die Ausbildung seiner weiter unten zu

Ueber die Untersuchung des Hodens durch REGAUD (1901) mit Hilfe einer Silbermethode vergl. pag. 539.

b) Silbermethoden am fixirten Objekte. R. HERTWIG (1880) fixirt Seethiere in verdünnter Osmiumsäure, wäscht in destillirtem Wasser aus, bis das Spülwasser nur noch geringe Niederschläge mit Silberlösung giebt, und lässt dann eine 1%ige Höllensteinlösung etwa 6 Minuten einwirken.

SALGE und STOELTZER (1899) behandeln Schnitte vom rhachitischen Knochen folgendermassen: 3 Minuten lang Verweilen in einer 0,5%igen Argentum nitricum-Lösung, Abspülen in destillirtem Wasser, Uebertragen auf eine Minute in eine 5%ige Bromnatriumlösung, erneutes Abspülen in destillirtem Wasser, Entwicklung in Amidol, dem photographischen Entwickler. Uranverstärkung der gesilberten Präparate war sehr brauchbar.

MOSSE (1900) benutzt folgende Silbermethoden zur Darstellung einzelner Theile des Nervensystems: 1. der chromatischen Substanz der Nervenzellen: Fixation nach CARNOY; Paraffineinbettung; die aufgeklebten Schnitte kommen für ca. 2 Minuten in eine 1—2%ige Lösung von Argentamin (siehe pag. 50); Abspülen in destillirtem Wasser, Ueberführen in eine 10%ige Pyrogallollösung, bis die graue Substanz einen bräunlichen Farbenton annimmt.

2. der Markscheiden: Fixation in MÜLLER'scher Flüssigkeit, Alkohol, Celloidineinbettung; die Schnitte kommen 24 Stunden in MÜLLER'sche Flüssigkeit, dann 10 Minuten in eine 1—2%ige Lösung von Argentamin; Abspülen in Wasser; Reduktion in 10%iger Pyrogallollösung, bis die Schnitte ganz schwarz werden; Abspülen in Wasser; Differenzirung nach PAL etc.

Nach einem recht komplicirten Verfahren stellt FAJERSZTAJN (1901) die Axencylinder dar; es muss hier auf das Original verwiesen werden. Siehe ferner Nervenfaser (Axencylinder).

Anhang: Die Silbermethoden in der Bakteriologie. Der erste Autor, der eine Silbermethode bei der Darstellung der Geisseln in Anwendung brachte, war VAN ERMENGEM (1893); über seine Methode siehe pag. 428. Diese Methode ist von HINTERBERGER (1900) modificirt worden.

Weiterhin hat ZETTNOW (1899) eine Silbermethode zu demselben Zwecke ausgebildet. Einmal benutzt er das Silbernitrat zur Verstärkung der bei der Goldmethode erhaltenen Präparate (pag. 463); dann aber empfiehlt er folgende Silbermethode: Zu einer gesättigten Lösung von Silbersulfat, das man sich aus Silbernitrat durch Zusatz von Magnesium- oder Natriumsulfat herstellt und zu der etwa 4 Grm. auf 500 Ccm. Wasser genommen werden, wird eine beliebige Menge der käuflichen 30%igen wässerigen Aethylaminlösung gesetzt, solange, als der sich zunächst bildende Niederschlag wieder auflöst. Zu dieser Lösung wird Silbersulfat von neuem hinzugefügt; man erhält so eine klare, farblose Lösung. 4—5 Tropfen dieser Lösung werden auf das vorher gebeizte Bakterienpräparat gebracht und dieses bis zur kräftigen Dampfbildung erwärmt. Verstärkung des Präparates kann mit Gold- oder Quecksilberchlorid vorgenommen werden.

WELCKE (1899) benutzt folgende Methode: das fixirte und gebeizte Präparat wird mit einer Silberoxyd-Ammoniaklösung bis zur Dampfbildung erwärmt, bis nach 2—3 Minuten Bräunung eintritt; Eintauchen in eine 1%ige Sublimatlösung eine Viertelminute; Abwaschen, Absaugen der Flüssigkeit;

referirenden Methoden, Markscheiden und Nervenzellen durch Silberimprägnation darzustellen. Es wurden die verschiedensten Silbersalze sowohl subkutan wie intravenös Kaninchen injicirt, in der Hoffnung, durch nachträgliche Anwendung von Reduktionsmitteln bestimmte Bestandtheile der nervösen Apparate zu versilbern. In einigen Fällen gelang es in der That, eine makroskopisch deutliche Schwarzfärbung der grauen Substanz der Centralorgane hervorzurufen. Die weitere Verfolgung des Planes scheiterte aber daran, dass es damals nicht gelang, ein geeignetes Fixationsmittel ausfindig zu machen. Immerhin wäre es vielleicht nicht ausgeschlossen, auch auf dem soeben skizzirten Wege eine Art »vitaler Silberimprägnation« zu erreichen, wenn erneute Versuche mit anderen Fixationsmitteln zu besseren Resultaten führen würden.

zweite Einwirkung der Silberoxyd-Ammoniaklösung 1—3 Minuten; Abspülen, Absaugen, Reduktion mit dem Rodinal- oder Metol-Entwickler, eine Viertelminute; Abspülen, Trocknen.

Siehe ferner Malariaplasmodien, pag. 784.

III. Theoretisches über die Silbermethoden. Darüber, dass die Mehrzahl, wenn nicht alle Silbermethoden zu den Metallimprägnationen zu rechnen sind, besteht wohl kaum ein Zweifel. Man kann sich zum Beispiel leicht an den mit der Argentamin-Pyrogallolmethode dargestellten Markscheiden überzeugen, dass es sich um die Ablagerung eines feinvertheilten Niederschlages handelt. Dieser Nachweis gelingt naturgemäss am leichtesten an den kleineren und kleinsten Markscheiden; sie scheinen — mit starken Vergrösserungen betrachtet — aus feinen Körnelungen zu bestehen. Natürlich geht mit dieser Imprägnirung, wie dies auch für die Goldmethoden gilt, auch oft eine richtige Tinktion des Gewebes Hand in Hand.

Diese Definition der Imprägnation ist wohl diejenige, die sich der meisten Anerkennung erfreut. So sagt Gierke in seinem Aufsatz »Färberei zu mikroskopischen Zwecken« (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. 2, 1885), dass man unter »Imprägnation« die Schwängerung der Gewebe mit kleinen Partikelchen im Gegensatz zur Färbung mit gelösten Stoffen verstehe, wobei er gleichzeitig erwähnt, dass es ihm nicht bekannt sei, wann und durch wen zuerst der Unterschied zwischen Tinktions- und Imprägnationsmethoden aufgestellt sei. Er fährt dann weiterhin fort, der wesentlichste Unterschied gegen die Tinktionsmethoden sei darin begründet, dass die aufgenommenen Metallverbindungen sich nicht mit anderen zugeführten Stoffen in unlöslicher Form verbinden und so einen Niederschlag bilden, sondern durch besondere Agentien reducirt und so in Form eines metallischen Niederschlages in den Geweben ausgeschieden werden. Einen zweiten Unterschied sieht Gierke darin, dass Gewebssubstanz und Metallsalz eine Verbindung bilden, aus der dann das Metall durch Reduktion ausgeschieden wird.

Noch etwas prägnanter drückt sich Apáthy aus. Er versteht (Zeitschr. wiss. Mikrosk., Bd. 9, 1892) unter Imprägnirung die Differenzirung bestimmter Stellen im Gewebe durch loco entstandenen feinkörnigen Niederschlag, also eine Färbung durch eingelagerte Körnchen, welche schon mit dem Mikroskop nachweisbar wird. »Je feinkörniger und konstanter, resp. bestimmter lokalisirt der Niederschlag ist, umso gelungener die Imprägnirung. Die imprägnirten Stellen sind undurchsichtig. In der Wirklichkeit kommen natürlich auch verschiedene Uebergänge zwischen Tinktion und Imprägnirung vor, und oft wird es wohl kaum möglich sein, in einem gegebenen Fall zu unterscheiden, um welche es sich handelt.«

Aber welcher Art ist nun der Niederschlag bei der Silberimprägnirung? Das ist eine Frage, die noch keineswegs endgiltig für alle Fälle beantwortet worden ist. So viel ist jedenfalls sicher, dass die Reduktion des Silbersalzes, das die Gewebe durchdrungen hat, und die in dem einen Fall durch das Sonnenlicht, im anderen durch chemische Mittel erfolgt, sich als solche für unser Auge durch die Schwärzung oder Bräunung des Gewebes offenbart. Rabl hat Untersuchungen darüber angestellt, welcher Art der Niederschlag bei der Behandlung der Gewebe mit Argentum nitricum ist. Während die ältere Anschauung die ist, dass sich das Silbernitrat mit dem Eiweiss des Gewebes zu einem Silberalbuminat verbindet, aus dem sich unter dem Einfluss des Lichtes eine Silberverbindung in Form kleiner Kügelchen ausscheidet, hält Rabl es auch für möglich, dass sich das Silbersalz mit dem Albumin durch Zusammenlagerung der Moleküle zu einem Silbernitrat-Eiweiss verbindet. Er konnte zeigen, dass der Niederschlag sich in thioschwefelsaurem Natron löst, dass es sich also nicht um metallisches Silber, sondern vielmehr um eine Verbindung desselben, wahrscheinlich ein Oxydationsprodukt handelt.

Litteratur: Alférow (Arch. de Physiol., 1874), Bergh (Anat. Hefte, 1899), Dekhuyzen (Anat. Anz., 1889), Eberth (Unters. d. pathol. Instituts, Zürich 1874), Fajersztajn (Neurol. Centralbl., 1901), Flinzer (De argenti nitrici usu etc., Diss. 1854), Frommann (Virchow's Arch., 1864), Gerota (Arch. Anat. Phys., 1897), Harmer (Mitth. Zool. Stat. Neapel, 1884), R. Hertwig (Jen. Zeitschr. Naturw., 1880), Hinterberger (Centr. Bakt., 1900). His (Beitr. z. normalen u. pathol. Histologie der Cornea, Basel 1856), derselbe (Virchow's Arch., 1861), G. u. F. E. Hoggan (Journ. de l'anat. et physiol., 1879), Hoyer (Arch. mikr. Anat., 1876), Krause (in Wagner's Handwörterbuch der Physiol., Bd. 2, 1844, pag. 119 u. 156), Legros (Journ. de l'anat. et physiol., 1868), Mosse (Deutsch. med. Woch., 1900), derselbe (Arch. mikr. Anat., 1901), C. F. Müller (Virchow's Arch., 1867), Rabl (Sitzungsber. Akad. Wien, 1893), Ranvier (Traité technique), derselbe (Journ. de l'anat. et physiol., 1868), von Recklinghausen (Virchow's Arch., 1860), derselbe (Die Lymphgefässe und ihre Beziehungen zum Bindegewebe, Berlin 1862), derselbe (Virchow's Arch., 1863), Robinski (Arch. de physiol., 1869), Rouget (Arch. de physiol., 1873), Salge u. Stoeltzer (Verhandl. Ges. d. Charitéärzte, Berlin 1899, Berl. klin. Woch., 1900), Simarro (ref. in Zeit. wiss. Mikr., 1902), von Thanhoffer (Das Mikroskop, 1880), Tommasi (Virchow's Arch., 1863), Tourneux u. Herrmann (Journ. de l'anat. et de physiol., 1876), Welcke (Arch. klin. Chir., 1899), Zettnow (Zeitschr. Hyg. u. Inf., 1899).

Weitere Litteratur siehe bei Golgi'sche Methode, Knochen und Zähne, Injektion der Blut- und Lymphgefässe, Peritoneum, Nervenfaser (Axencylinder), Elastin, Geisselfärbung.

Die Arbeiten bis zum Jahre 1882 sind fast vollständig in dem Gierke'schen Aufsatz »Färberei zu mikroskopischen Zwecken«, Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884, referirt.

Mosse, Berlin.

Sinigrin (myronsaures Kali) siehe Glykoside.

Siphonophoren siehe Coelenteraten.

Smaragdgrün Syn. für Brillantgrün (Elberfeld).

Sodakarmin siehe Karmin.

Sodawasser siehe Kohlensäure.

Solanin siehe Glykoside.

Solferino Syn. für Fuchsin.

Solidgrün O in Teig, ein Nitrosofarbstoff, der durch Einwirkung von salpetriger Säure auf Resorcin entsteht (Höchst). Braunes oder gelbes Pulver, das in Wasser schwer, in Alkohol leichter löslich ist. Färbt mit Eisen gebeizte Zeuge grün.

Von Platner zuerst zur Färbung des Achsencylinders und des Neurokeratins von mit Liquor ferri fixirten Nerven benutzt. Es liefert aber auch in alkoholischer Lösung nach Beizung der Schnitte in Eisenalaun eine recht gute Kernfärbung (vergl. Nervenfaser, Achsencylinder). Pfeiffer v. Wellheim fixirt in Flemming, behandelt zuerst in eisenchloridhaltigem Alkohol und dann mit alkoholischer Solidgrünlösung. Differenziren in Salzsäurealkohol. Nachfärben mit alkoholischem Magdalaroth.

Litteratur: Platner (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), Pfeiffer v. Wellheim (Pringsheim's Jahrb., Bd. 26, 1894).

Speichel, künstlicher, siehe pag. 766.

Speicheldrüsen siehe Drüsen.

Spektropolarisator siehe Polarisationsmikroskop.

Sparteïn siehe Alkaloide.

Sperma (forensisch). Bei gerichtsärztlichen Untersuchungen auf Sperma ist nur der mikroskopische Nachweis von Spermatozoen entscheidend, da die anderen mikroskopischen Elemente des Samens (Krystalle, Epithelzellen) nicht von specifischer Bedeutung sind. Und zwar ist stets der Nachweis vollständiger Spermatozoen anzustreben, da blosse Bruchstücke, isolirte Köpfchen und Schwänzchen zu Verwechslungen Anlass geben können, indem sie durch Gebilde anderer Art vorgetäuscht werden.

Neben dem Spermatozoennachweis und ihn unterstützend kann die von FLORENCE angegebene Sperminprobe Verwendung finden. Ein Tropfen der betreffenden Masse oder der Macerationsflüssigkeit (s. u.) wird auf dem Objektträger mit einem Tropfen Jodjodkaliumlösung vermischt; empfohlen wird von FLORENCE speciell eine Lösung von 1,05 Grm. Jodkalium und 2,54 Grm. Jod auf 40 Grm. Wasser. Entstammt die untersuchte Flüssigkeit menschlichem Sperma, so bilden sich sofort zahlreiche Krystalle, die in ihrer Form an Häminkrystalle lebhaft erinnern.

Eine specifische Reaktion auf menschliches Sperma stellt diese Probe, die sehr oft gelingt, wenn der Spermatozoennachweis nicht mehr möglich ist, leider nicht dar. Auch thierisches Sperma, Vaginal-, Uterinschleim, faulende Organe verschiedener Art geben die Reaktion.

Es scheint, dass dieselbe überall eintritt, wo Lecithin sich in einer bestimmten Stufe des Zerfalls befindet, eine Stufe, die im Sperma physiologischer Weise vorhanden ist, in anderen lecithinhaltigen Stoffen aber durch die Fäulniss herbeigeführt werden kann.

Umgekehrt bleibt die Reaktion auch bei sicheren Spermaflecken aus, so dass ihr negativer Ausfall weitere Untersuchungen nicht überflüssig macht; besonders scheint dies der Fall zu sein, wenn Sperma mit Blut vermischt ist.

Zum Spermatozoennachweis kann die zu untersuchende Substanz, wenn es sich um feuchte Massen handelt, direkt — rein oder verdünnt — auf den Objektträger gebracht werden.

Handelt es sich um angetrocknete Flecke, so müssen dieselben erst erweicht werden. Mitunter genügt es schon die befleckte Stelle mit Wasser zu befeuchten, dann mittels eines Glasstabes gegen den Objektträger anzudrücken und die auf diesen gelangende trübe Flüssigkeit zu durchmustern. Gelingt der Nachweis so nicht, so wird der betreffende Fleck oder ein Theil desselben in Streifen geschnitten und diese je nach dem Grade der Eintrocknung minuten- oder stundenlang in destillirtem Wasser macerirt, die trübe Flüssigkeit unter das Mikroskop gebracht; zur Aufhellung kann ihr etwas 5%ige Essigsäure zugesetzt werden.

Statt des Wassers ist verdünnte Ammoniaklösung empfohlen worden oder der Zusatz von Salzsäure (1 Tropfen auf 40 Ccm.), um die Aufquellung und den Zerfall der Spermatozoen zu verhindern. MASCHKA rieth, die Streifen, um ein Abspülen der Spermatozoen zu vermeiden, nur mit einem Ende in die Flüssigkeit hineintauchen zu lassen, sie nach dem Herausnehmen abtropfen zu lassen und nun gegen den Objektträger auszudrücken.

UNGAR hat der Macerationsflüssigkeit Methylgrün zugesetzt (0,2% Methylgrün auf 100 Ccm. Wasser und 4 Tropfen Salzsäure). Nach mehreren Stunden Aufenthaltes des Fleckes in der Flüssigkeit wird ein Deckgläschen mit ihr benetzt und dieses dann getrocknet und untersucht; die Spermatozoen treten als stark grün gefärbte Gebilde hervor.

Man kann auch die Macerationsflüssigkeit in der für Bakterienpräparate üblichen Weise auf Deckgläser antrocknen und diese dann färben. Zur Färbung sind sowohl die Anilinfarbstoffe, wie die Karminpräparate, wie Hämatoxylin geeignet; letzteres gestattet eine Gegenfärbung mit Eosin. Die Köpfe der Spermatozoen, besonders der hintere Abschnitt derselben treten dann durch ihre Färbung deutlich hervor und erleichtern ihre Auffindung. Die Technik unterscheidet sich nicht von der sonstigen Methode der Kernfärbung mittels dieser Substanzen; doch ist bei alten Flecken die schwere Färbbarkeit der lange abgestorbenen Zellen zu berücksichtigen, die Einwirkung des Farbstoffes deshalb auf längere Zeit (24 Stunden) zu bemessen.

Litteratur: RICHTER (Zeit. Medicinalbeamte, 1897, pag. 849), GUMPRECHT (Centralbl. f. path. Anat., Bd. 9, Nr. 14/15), UNGAR (Vierteljahrschr. f. ger. Med., N. F., Bd. 46, 1887), BRÄUTIGAM (Zeit. Medicinalbeamte, 1892), BEUMER (Deutsche med. Woch. 1898).

F. Strassmann, Berlin.

Spermatogenese siehe Hoden.

Spermatozoiden der Pflanzen. Für die Fixirung der fertig ausgebildeten pflanzlichen Spermatozoiden, z. B. der Farne und Moosprothallien und Characaeen hat sich die Anwendung von Osmiumdämpfen bewährt. Man bringt sie zu diesem Zweck in einem flach ausgebreiteten Tropfen auf einen Objektträger, der umgekehrt auf eine flache Schale gelegt wird, in der sich ein- oder mehrprocentige Osmiumsäure befindet. Gefärbt wird mit Jodgrün-Fuchsin (s. Pflanzliche Kerntheilung). Der vordere Abschnitt des Bandes nebst den Cilien, z. B. der Characaeen, ist dann intensiv roth, der folgende längste Abschnitt des Bandes blau, der hintere, etwas angeschwollene Theil des Körpers wiederum roth, doch nicht so intensiv wie der vordere Abschnitt gefärbt (Belajeff, Strasburger). Dass dieser blau gefärbte Abschnitt dem Kern entspricht (nukleïnhaltig ist), wird durch Eintragen lebender Spermatozoiden in eine Fuchsin-Glaubersalzlösung gezeigt (10 Grm. Glaubersalz pro analysi (Merk), 1 Grm. Eisessig, 100 Grm. Wasser mit Zusatz von etwas Fuchsin S). Die gleichen Theile wie vorher werden jetzt roth gefärbt, während der mittlere Theil, ohne sich zu färben, stark aufquillt. Umgekehrt kann durch Zusatz von Methylgrün statt Fuchsin S der mittlere quellende Theil gefärbt werden, während das übrige ungefärbt bleibt (Zacharias).

Litteratur: Belajeff (Flora 1894, Ergänzungsband), Strasburger (Histol. Beiträge, IV, 1892 und Gr. bot. Prakt., 3. Aufl., 1897), Zacharias (Ber. d. deutsch. bot. Ges., XIX, 1901).

Magnus, Berlin.

Spermien. Zum Studium der Bewegungserscheinungen der Spermien der Wirbelthiere wird das Sperma dem Hoden oder besser noch dem Vas deferens, resp. den Nebenhoden entnommen und mit physiologischer Kochsalzlösung von 0,6 – 0,75% oder Humor aqueus (dem Auge des Thieres, von welchem das Sperma stammt, entnommen) verdünnt. Bei Fischen gewinnt man es einfach durch Ausdrücken des Milchners und untersucht es in Wasser.

Das beste Fixirungsmittel der Spermien ist Osmiumsäure. Man setzt der spermienhaltigen Flüssigkeit einige Tropfen einer 1%igen Lösung der Säure hinzu oder fixirt besser noch durch Osmiumsäuredämpfe, indem man diese auf die im hängenden Tropfen befindlichen Spermien etwa 10 Minuten einwirken lässt, bis eine leichte Bräunung der Flüssigkeit eingetreten ist. Die durch Zusatz von 1%iger Osmiumsäure fixirten Präparate lassen sich in der Flüssigkeit längere Zeit konserviren, wenn man ein Stückchen Kampher hinzuthut.

Andere Fixirungsmittel, wie Sublimatlösungen, Flemming'sche, Hermann-sche Lösung u. a. wendet man am besten nur auf Organe an, welche spermahaltig sind, wie Hoden, Nebenhoden, Receptaculum seminis. Derartige fixirte Organstücke können dann geschnitten, gefärbt und in Balsam eingebettet werden. Als Färbemittel leistet Eisenhämatoxylin gute Dienste. Für spermienhaltige Flüssigkeiten empfehlen sie sich aber nicht, da durch ihre Einwirkung die Spermien in diesen häufig zu Klumpen zusammengeballt werden und auch in ihrer Tinktionsfähigkeit Einbusse erleiden. Gerade der Umstand, dass bei einfacher Osmiumbehandlung alle Farbstoffe in Anwendung gezogen werden können, ist bei diesen Objekten ein grosser Vortheil der Osmiumsäure.

Eine sehr zu empfehlende Untersuchungs- und Aufbewahrungsmethode der Spermien ist die Anfertigung von Deckglastrockenpräparaten. Man verfährt dabei in derselben Weise, wie es bei bakteriologischen Untersuchungen üblich ist. Von der Flüssigkeit, welche mit den durch Osmiumsäuredämpfe fixirten Samenkörpern versehen und nach der Fixirung mit destillirtem Wasser versetzt ist, wird ein Tropfen auf das zuvor angehauchte Deckgläschen gebracht und hier in dünner Schicht vertheilt. Diese dünne Schicht

lässt man zunächst an der Luft antrocknen. Die Samenkörper müssen stets zuvor fixirt sein, da die zarten Formen, z. B. die der Fische, den Process des Eintrocknens sonst nicht vertragen, quellen und bisweilen bis auf Reste zerstört werden. Sodann werden die Deckgläschen vorsichtig und schnell einige Male durch eine Spiritusflamme gezogen. Nach der Abkühlung legt man die Gläschen mit den bestrichenen Flächen nach unten auf die Farbstofflösung und lässt sie einwirken. Je nach dem Objekt und der Lösung werden die Präparate schnell mit destillirtem Wasser abgespült oder auch nicht. Sodann lässt man sie wieder an der Luft trocknen, zieht sie wieder vorsichtig durch die Flamme, um den letzten Rest von Flüssigkeit zu entfernen, und bettet sie einfach in Xylolbalsam ein. Wenn man unter Beobachtung dieser Kautelen verfährt, wird die Form auch der zarteren Gebilde recht gut konservirt. Um festzustellen, welcher Theil der Spermien Kernreaktion giebt, empfiehlt sich Alaunkarmin (nach GRENACHER), welches an diesen Trockenpräparaten meist ausschliesslich und intensiv die Köpfe färbt. Hämatoxylinlösungen tingiren immer gleichzeitig auch die übrigen Theile der Samenkörper mit.

Zur Herstellung von Macerationen der Spermien dienen wässerige Kochsalzlösungen von 0,6—3%. Die besten Resultate erhält man, wenn man die Macerationen unter dem Deckglase in folgender Weise vornimmt: Mit einer Instillationspipette wird von dem mit der Macerationsflüssigkeit versetzten Sperma ein Tropfen auf den Objektträger gebracht, mit dem Deckgläschen bedeckt und durch einen Wachsring hermetisch abgeschlossen. Nach 1 bis 2 Tagen pflegt dann ein Zerfall der Körper eingetreten zu sein. Diese Methode bietet zugleich den Vortheil, dass sich die Spermien infolge der Flächenattraktion von vornherein an die Glasflächen dicht anlegen und daher in ihrer ganzen Ausdehnung leicht zu übersehen sind. Zugleich scheint die Flächenattraktion den Zerfall zu unterstützen und zu beschleunigen. Auch werden die zerlegten Fasern hierbei meist in ihrer natürlichen Zusammenlagerung neben einander fixirt. Es ist bei diesen Deckglasmacerationen nur darauf zu achten, dass die Präparate nicht zu lange liegen, da sie gewöhnlich bald, vor allem bei den zarteren Formen, undeutlich werden.

Auch durch Einwirkung von 1%iger Essigsäure ist ein faseriger Zerfall der Geissel zu erzielen, aber nur an Hodenpräparaten. Bei Spermien aus dem Nebenhoden und Vas deferens leistet oft die Fäulnissmaceration gute Dienste.

Zur Färbung der Spermien kommen am vortheilhaftesten möglichst intensiv tingirende Färbemittel, besonders Anilinfarben, zur Anwendung; unter diesen bietet das Gentianaviolett den Vorzug, dass es differenzirte Färbung giebt.

Bei Tinktion der Deckglasmacerationen verfährt man in folgender Weise: Der Wachsring wird an zwei gegenüberliegenden Rändern mit einer Nadel entfernt. Sodann bringt man von der 0,5—1%igen wässerigen Farbstofflösung (Gentianaviolett) mit dem Glasstabe an den einen freien Rand einen Tropfen und saugt ihn von dem anderen Rande aus vermittelst Fliesspapiers vorsichtig und langsam durch das Präparat hindurch, bis eine deutliche intensive Färbung der Theile eingetreten ist. Von Wichtigkeit ist, dass der Farbstoff recht langsam das Präparat durchsickert, da sonst bei kleinen Spermienformen die meisten herausgeschwemmt, bei den langen Formen dagegen die Fasern zu unregelmässigen Gewirren zusammengeknäuelt werden. Wo es angeht, lässt man daher besser ohne Anwendung des Fliesspapiers die Färbeflüssigkeit an den schräg gestellten Objektträgern langsam hindurchlaufen. Ist genügende Färbung eingetreten, so legt man auf das Präparat ein Stück Fliesspapier, so dass gleichzeitig von allen Seiten die überstehende Flüssigkeit aufgesogen wird. Alsdann bedeckt man das Präparat

nochmals mit einem reinen Stück Fliesspapier und drückt durch dasselbe hindurch mit dem Daumennagel das Deckgläschen vorsichtig, aber doch kräftig gegen den Objektträger an.

Diese Procedur hat den Zweck, die Flüssigkeit zwischen Objektträger und Deckgläschen möglichst dünn zu machen, so dass die Samenkörper möglichst in einer Horizontalebene ihrer ganzen Länge nach ausgebreitet sind. Nur dann ist es möglich, ähnlich wie bei einem Bakterienpräparat das Farbenbild bei Anwendung des Abbe'schen Beleuchtungsapparates und stärkster Vergrösserung voll zur Geltung zu bringen.

Ist dies geschehen, so vervollständigt man wieder den Wachsring, und das Präparat ist für die Untersuchung fertig.

Bei diesen Macerationen ist es Hauptbedingung, dass die Präparate durchaus sauber und reinlich hergestellt sind und eine jede Verunreinigung vermieden wurde. Ferner muss man die Mischung der Flüssigkeiten so abpassen, dass die Samenkörper isolirt zu liegen kommen, was bei den langschwänzigen Formen nicht immer gelingt. Die Untersuchung muss nach Herstellung des Präparates sogleich vorgenommen werden, da derartig behandelte Präparate sich nur wenige Tage halten. Nach 1—2 Tagen ist häufig an den mit Gentianaviolett tingirten, in Wasser unter dem Deckglas eingeschlossenen Präparaten eine Differenzirung der Färbung insofern eingetreten, als manche Theile der Spermien den Farbstoff abgegeben, andere dagegen ihn zurückbehalten haben.

Litteratur: E. Ballowitz (Arch. mikr. Anat., Bd. 32, 1888), derselbe (Zeit. wiss. Zool., Bd. 50, 1890), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 36, 1890). K. Ballowitz (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 11, 1894), O. S. Jensen (Arch. mikr. Anat., Bd. 30, 1887).

E. Ballowitz, Greifswald.

Sphärozoen siehe Protozoen.

Spirogyra siehe Conjugaten.

Spongien siehe Coelenteraten.

Sporozoen siehe Protozoen und Parasiten, thierische.

Spritblau, Syn. für Gentianablau (Elberfeld, Ludwigshafen).

Spriteosin, Syn. für Eosin, spirituslöslich.

Sprosspilze siehe Hefe.

Sputum. Um sich die für die mikroskopische Untersuchung des Auswurfs geeigneten Theile auszuwählen, bedient man sich mit Vortheil Teller, deren Boden ganz oder zur Hälfte geschwärzt sind. Die Untersuchung erfolgt zunächst im frischen Präparat in der Weise, dass das zu untersuchende Theilchen mit einer Nadel, einer Pincette oder einem Spatel auf den Objektträger gebracht und mit einem Deckglase bedeckt wird. Selten ist es nöthig, eine Verdünnung des Sputums mit physiologischer Kochsalzlösung vorzunehmen. Die Untersuchung wird zunächst mit schwachen, dann mit stärkeren Vergrösserungen vorgenommen.

Zusatz von 1 %iger Essigsäure zum Sputum macht den vorher durchsichtigen Schleim trübe und macht den Kern der Leukocyten deutlicher sichtbar.

Färbung des Sputums wird in der Weise vorgenommen, dass eine dünne Schicht entweder auf dem Objektträger oder auf dem Deckglase ausgestrichen und lufttrocken gemacht wird. Dann wird der Objektträger oder das Deckglas, um das Präparat zu fixiren, dreimal durch die Flamme gezogen. Besondere Kästen zur Fixation von Objektträgern benutzt C. Ritter; in die Kästen wird Formol oder Osmiumsäure gegossen.

Vorschriften zur Färbung der eosinophilen Zellen rühren von Fuchs und von Teichmüller her. Fuchs färbt zwei Minuten in einer 0,5 %igen

alkoholisch-wässerigen Eosinlösung, entfärbt in 50%igem Alkohol und färbt mit Methylenblau nach. TEICHMÜLLER beschickt Objektträger, die nach der Fixation über der Flamme noch warm in eine 0,5%ige alkoholische Eosinlösung kommen und dort wenigstens 5 Minuten bleiben. Abspülen in Wasser; Nachfärben in konc. wässeriger Methylenblaulösung 2 Minuten lang.

Einfach und sicher ist die Färbung mit dem neutralen Eosin-Methylenblaugemisch nach MAY-GRÜNWALD.

Zur Untersuchung auf elastische Fasern, die durch Kalilauge aufgequellt werden, giebt SAHLI ein Verfahren an, das er dann besonders empfiehlt, wenn die Fasern wegen ihrer Spärlichkeit nicht ohne weitere Vorbereitung gefunden werden können. In einem Porzellanschälchen werden ca. 10 Ccm. Sputum unter Umrühren mit der gleichen Menge 10%iger Kalilauge gekocht. Ist das Sputum hiedurch in eine homogene Masse verwandelt, so wird es mit der vierfachen Menge Wasser verdünnt, umgeschüttelt und in einem Spitzglase stehen gelassen. Die Fasern setzen sich zu Boden und können mittels einer Pipette unter das Mikroskop gebracht werden.

Die Färbung der elastischen Fasern kann entweder nach TAENZER-UNNA oder nach WEIGERT geschehen (vergl. pag. 193). Nach MAY wird mit Orceïn so gefärbt, dass das mit der gleichen Menge 10%iger Kalilauge vermengte Sputum bis zur Lösung erhitzt wird, dann wird centrifugirt, dekantirt und mit 2 Ccm. Orceïnlösung versetzt. Dann wird so lange tropfenweise Salzsäure zugesetzt, bis die Lösung roth wird; sie wird dann für 3—5 Minuten in kochendes Wasser gebracht und mit Salzsäurealkohol entfärbt. Elastische Fasern braunroth bis violett, alle andern Fasern entfärbt.

Mit der WEIGERT'schen Lösung wird nach L. MICHAELIS so gefärbt, dass zwei Objektträger, auf denen das Sputum verstrichen ist, in ein Gefäss mit der Lösung für eine halbe Stunde kommen, mit Wasser abgespült und mit 3%igem Salzsäurealkohol behandelt werden, bis sie farblos werden. Es wird dann Cedernöl auf dem Objektträger ausgebreitet und, ohne mit einem Deckglase zu bedecken, mit schwacher Vergrösserung untersucht. Elastische Fasern dunkelviolett. B. FISCHER hat mit dieser Methode gute Erfolge erzielt.

Um die CHARCOT-LEYDEN'schen Krystalle zum Zweck farbenanalytischer Untersuchung zu färben, kann EHRLICH'sches Triacid, sowie Thionin genommen werden (H. STRAUSS).

Ueber die Untersuchung des Sputums auf Bakterien vergl. Trockenpräparat. Siehe ferner Tuberkelbacillus.

Um zellige Elemente, die in Ausstrichpräparaten oft zugrunde gehen, besser zu erhalten, kann man nach GABRITSCHEWSKY das Sputum auch fixiren (in Alkohol, FLEMMING'scher Lösung, Chromessigsäure, Pikrinsäure, koncentrirte Sublimatlösung), einbetten, schneiden und mit Safranin, Alaunkarmin, Hämatoxylin-Eosin färben.

Litteratur: B. FISCHER (Münch. med. Woch., 1902), FUCHS (Deutsch. Arch. klin. Med., 1899), GABRITSCHEWSKY (Deutsch. med. Woch., 1891), MAY (Deutsch. Arch. klin. Med., 1899), MAY-GRÜNWALD (Centr. innere Med., 1902), L. MICHAELIS (Deutsch. med. Woch., 1901), C. RITTER (Zeit. wiss. Mikr., 1898), SAHLI (Klinische Untersuchungsmethoden, 1902), H. STRAUSS (Berl. klin. Woch., 1900), TEICHMÜLLER (Deutsch. Arch. klin. Med., 1899). *Mosse*, Berlin.

Stabilit, rothe, homogene, feste Masse, welche schwach nach Kautschuk riecht. In der Elektrotechnik vielfach als Isolirmittel benutzt. Die von den elektrotechnischen Firmen zu beziehenden Platten oder Stangen lassen sich leicht zersägen.

Wegen seiner Unlöslichkeit in Wasser und Alkohol und Widerstandsfähigkeit gegen die meisten Reagentien ist er von JELINECK zum Aufkleben von Celloidinblöcken empfohlen worden.

Litteratur: JELINECK (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894).

Staphylokokken. Unter Staphylokokken versteht man traubenartig angeordnete Verbände von Kokken. Diese Art des Wachsthums, das darauf beruht, dass die Theilungsebenen bei der Fortpflanzung in zwei Richtungen des Raumes liegen, kommt bei sehr zahlreichen, überall verbreiteten Arten vor. Die wichtigste ist der Staphylococcus pyogenes mit seinen drei Unterarten aureus, albus und citreus, der häufigste Erreger von Eiterungen auf der Haut und in den inneren Organen, einschliesslich des Knochensystems. Er findet sich jedoch auch bei ganz gesunden Menschen auf der Mundschleimhaut und gelegentlich auch auf der normalen Haut.

Der Nachweis von Staphylokokken im ungefärbten Eiterpräparat ist meist schwer. Leichter gelingt er durch Färbung mit verdünnter Fuchsinlösung. Doch ist es auch hierbei möglich, die Staphylokokken zwischen den gleichfalls stark gefärbten Eiterkörperchen zu übersehen. Weit besseren Einblick bieten Gram-Präparate, besonders wenn man dieselben noch mit Fuchsin oder Eosin nachfärbt. Die Staphylokokken sind nach Gram färbbar.

Zur Schnittfärbung eignet sich auch am besten die Gram-Färbung mit Pikrokarminvorfärbung.

Bezüglich der kulturellen mikroskopischen Eigenthümlichkeiten des Staphylococcus pyogenes ist zu erwähnen, dass er auf Gelatine weisse (dann je nach der Varietät mehr gelblich werdende), runde Kolonien bildet, die nur eine mässige Grösse erreichen, die Gelatine schnell verflüssigen und sich bei 60facher Vergrösserung als scharfrandige, dunkle, grobkörnige Gebilde darstellen. Auf der Agarplatte bei höherer Temperatur werden sie grösser, saftiger und dunkler.

Litteratur: Günther (Einführung in das Studium der Bakteriologie), Flügge (Mikroorganismen), Migula (Systematik der Bakterien), Heim (Technik der Bakteriologie).

Heymann, Breslau.

Stärke oder Amylum, ein Polysaccharid $(C_6 H_{10} O_5)_n$, findet sich in den Zellen höherer Pflanzen in mannigfaltiger, aber für jede Pflanze sehr charakteristischer Gestalt vor. Die wichtigste Reaktion der Stärke ist die Blaufärbung durch Jod. Eine reine Blaufärbung erhält man jedoch nur aus sehr verdünnten Lösungen, am besten, wenn man sich unmittelbar vor dem Gebrauch eine wässerige Jodlösung in der Weise herstellt, dass man einige Tropfen beliebig alter alkoholischer Jodlösung in einige Cubikcentimeter destillirten Wassers giesst. Eine schön veilchenblaue Färbung erhält man auch, wenn man Jodsplitter in den Beobachtungstropfen zwischen die Stärkekörner streut. Die Färbung beginnt alsbald im Umkreis dieser Splitter. Die schärfste Reaktion liefert jedoch, wenn auch eine Färbung von violettbraun bis dunkelschwarzbraun, das gewöhnlich angewandte Jodjodkalium in folgender Zusammensetzung: 0,5 Grm. Jodkalium, 1 Grm. Jod in wenig Wasser auf 100 Ccm. Wasser verdünnt und über dem ausgeschiedenen Jod aufbewahrt (Arth. Meyer). Die Mischung wird besonders zum Nachweis kleiner Stärkemengen etwa in Chlorophyllkörnern gebraucht, eventuell nachdem das Präparat durch Chloralhydrat aufgehellt wurde (vergl. Chromatophoren). Gute Dauerpräparate erhält man, wenn man durch Eintrocknen alkoholischer Jodlösungen die Stärkekörner stark überfärbt und in Kanadabalsam einschliesst. In einigen Tagen löst der Balsam (nicht rektificirt) die anfänglich dunklen Wolken völlig heraus, so dass nur noch die Stärke rothbraun gefärbt bleibt (H. Fischer). Die Stärkekörner enthalten im allgemeinen zwei Modifikationen α- und β-Amylose. Letztere ist in Wasser von 100° löslich, sie bedingt die Blaufärbung durch Jod, erstere erst bei 138° und färbt sich mit Jod nur röthlich. Gewisse Stärkekörner enthalten, und dann oft in grosser Menge, Amylodextrin, das in Wasser von 60° leicht gelöst wird und sich beim Erkalten nicht wieder abscheidet. Es ist ein Zwischenprodukt der Verwandlung der Stärke in Dextrin und Maltose. Die weinrothe Färbung

durch Jod macht es leicht erkenntlich (z. B. Stärkekörner von Sorghum vulgare glutinosum = Klebhirse und Stärke in Siebröhren). Weiter ist für die Stärkekörner charakteristisch ihre Quellbarkeit in Wasser, die beim Austrocknen wieder rückgängig gemacht wird, und ihre Verquellung (Kleisterbildung) in Wasser von über 60° (durch Uebergang der β-Amylose in zähflüssige Tropfen), die nicht wieder rückgängig gemacht werden kann. Ebenso verquellen die Stärkekörner in Kalilauge.

Während dieser Quellung tritt besonders deutlich die Struktur der Stärkekörner hervor. Sie besitzen immer eine Schichtung um einen koncentrischen oder excentrischen Kern, bedingt durch den verschiedenen Wassergehalt der einzelnen Schichten. Ihre radiäre Struktur tritt meist unter dem Einfluss von Reagentien hervor und ist z. B bei Kartoffelstärkekörnern zu erkennen, wenn dieselben eine Zeit lang mit verdünnter Säure behandelt wurden und dann im Wasser quellen (ARTH. MEYER). Die Schichtungen treten besonders schön bei Versilberung hervor. Getrocknete Stärkekörner (etwa bei 50°) werden mit einigen Tropfen 5%iger Silbernitratlösung stark befeuchtet und bis zur Reduktion möglichst intensiv beleuchtet. Die weniger dichten Schichten zeigen einen körnigen Silberniederschlag oder sind grau gefärbt. Die getrockneten Präparate können in Kanadabalsam eingeschlossen werden (CORRENS). Besser soll noch nach Verstärkung durch Sublimatbromkalilösung Silbernitrat mit Hydrochinonentwicklung wirken (vergl. GOLGI-Methode pag. 484, FISCHER). Ebenso kann durch Färbung mit Anilinfarben die Schichtung deutlich gemacht werden, z. B. durch Gentianaviolett oder durch Eisenhämatoxylin u. s. w. (SALTER). Oder man bringt mit Methylviolett gefärbte Körner in stark verdünnte Calciumnitratlösung (MEYER).

Ueber Fixirung und Färbung zum Studium der Bildung innerhalb der Leukoplasten vergl. Chromatophoren. Ueber ihr Verhalten im polarisirten Licht vergl. Polarisationsmikroskop.

Verwandt mit den Stärkekörnern sind die Paramylumkörner in Euglenen und anderen niederen Organismen. Sie zeigen deutlich Schichtung, werden aber durch Jod nicht gefärbt und quellen erst in 60%iger Kalilauge (KLEBS).

Litteratur: ARTH. MEYER (Untersuchung über die Stärkekörner, 1895), HUGO FISCHER (Beiheft z. bot. Centr., 13, 1902), SALTER (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 32, 1898), KLEBS (Unters. bot. Inst. Tübingen, Bd. 1), CORRENS (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 23, 1892). *Magnus*, Berlin.

Stärkebildner siehe Chromatophoren.

Steapsin siehe Enzyme.

Streptokokken. Unter Streptokokken versteht man kettenartige Verbände von Mikrokokken, welche oft zu hundert und mehr aneinander gereiht auftreten. Diese Art des Wachsthums aber findet sich nicht nur bei einer einzigen Art, sondern kommt bei sehr zahlreichen, in ihren sonstigen morphologischen und biologischen Eigenschaften recht verschiedenen Arten vor. Unter ihnen sind die Eiterung erregenden, die sog. pyogenen, die wichtigsten. Zu denselben gehören nach MIGULA der Streptococcus pyogenes ROSENBACH's, der Streptococcus erysipelatos, Streptococcus glomeratus, Streptococcus pyogenes longus von LINGELSHEIM, Streptococcus pyogenes brevis von LINGELSHEIM, Streptococcus murisepticus, Streptococcus septopyaemicus BIONDI. Diese Streptokokken kommen zunächst auf der normalen Schleimhaut des Mundes und der Nase vor, jedoch nicht auf der normalen Haut.

Hingegen finden sie sich sehr häufig in Hautabscessen, Furunkeln, Ulcerationen und sind auch als die Erreger des Haut- und Wunderysipels anzusprechen. Ferner sind sie sehr häufig bei Anginen, insbesondere der Scharlachdiphtherie, bei Bronchitiden und pneumonischen Affektionen, in tuberkulösen Kavernen, in Empyemen, eitrigen Peritonitiden im Anschluss an

das Puerperium, bei eitriger Meningitis, Otitis, Knochen- und Knochenhauterkrankungen u. a. m. beobachtet. Bei Nierenerkrankungen sind sie gelegentlich im Harn nachgewiesen, bei pyämischen Erkrankungen im Blut, besonders oft bei Scharlach, wobei sich dann oft multiple Abscesse in den verschiedensten Organen finden.

Die pyogenen Streptokokken sind meist runde Zellen, deren Durchmesser im ungefärbten Präparat 0,5—0,1 μ, im gefärbten 0,3—0,7 μ lang erscheint. Sie stellen oft sehr lange Ketten dar, die sich unter dem Mikroskop mitunter schon bei Benützung einer schwächeren Vergrösserung (ca. 60fachen) im gefärbten Präparat auffinden lassen. Zur Beobachtung der Streptokokken in Reinkultur eignet sich der hängende Tropfen, in dem sich die Streptokokken als unbewegliche Mikroorganismen erweisen. Zum Nachweis in Eiter, Blut u. dergl. genügt aber zumeist ein ungefärbtes Präparat nicht, sondern hierfür ist meist die Färbung des Materials erforderlich. Dieselbe gelingt leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben, z. B. 10fach verdünnter Ziehl'scher Lösung 1 Minute lang. Auch nach der Gram'schen Methode sind sie leicht färbbar. Eiterpräparate färbt man am besten nach Gram und schickt eine Gegenfärbung mit Eosin oder Fuchsin nach; Fuchsinfärbung allein hebt oft die spärlichen Streptokokken nicht genügend hervor und kann zu Irrthümern Veranlassung geben.

Nach Unna eignet sich zur Färbung der Kokken im Eiter, besonders Furunkeleiter, folgende Farblösung: Methylenblau 0,1, Spir. sapon. kal. 0,2, Aq. dest. 100,0.

Für die in den Fäces magendarmkranker Säuglinge bei gewissen Affektionen auftretenden Streptokokken hat Escherich eine besondere Färbetechnik angegeben. Man braucht für dieselbe 1. Gentianaviolett 5,0 Grm., $^1/_2$ Stunde in 200 Grm. Wasser gekocht und filtrirt (lange brauchbar), 2. Alkohol absolut. 11,0 Grm., Anilinöl 3,0 Grm. gemischt (lange brauchbar), 3. Jodi puri 1,0, Kal. jodat. 2,0, Aq. dest. 60,0, 4. Anilin, Xylol aa. 5. Reines Xylol.

Die Färbung geschieht so, dass man aus Lösung 1 und 2 im Verhältniss von $8^1/_2$ und $1^1/_2$ eine Farbe frisch herstellt und auf die, auf einem Objektträger dünnverstrichenen und angetrockneten Fäces auftropft, einige Sekunden darauf belässt und dann mit Fliesspapier durch leichtes Ausdrücken desselben abtupft. Nun giesst man die Jodkalilösung darüber, die sofort wieder abzutupfen ist. Sodann wird die Anilin-Xylollösung darauf gegeben und durch Drehen des Objektträgers bewirkt, dass dieselbe über das Präparat hin- und herrieselt, wobei man die Lösung so lange erneuert, bis sie keine blaue Farbe mehr annimmt. Jetzt folgt einmalige Abspülung mit reinem Xylol, Trocknung mit Fliesspapier und Nachfärbung mit einer zu gleichen Theilen Alkohol versetzten koncentrirten alkoholischen Fuchsinlösung.

In Organschnitten sind die Streptokokken leicht durch die Gram'sche Färbung nachweisbar. Zur Vorfärbung des Gewebes eignet sich Pikrokarmin. Die Konservirung und Einbettung des Materials erfolgt nach den üblichen Methoden, letztere am besten in Paraffin.

Was schliesslich die kulturellen mikroskopischen Eigenschaften der Streptokokken anlangt, so bilden sie auf Gelatine und besonders bei höherer Temperatur auf Agar kleine, nicht besonders charakteristische Kolonien. Die tiefliegenden von ihnen erscheinen bei 60facher Vergrösserung rund oder oval, mit glattem, scharfem Rande, völlig homogen, ziemlich undurchsichtig. Die oberflächlichen Kolonien sind feinkörnig und etwas bräunlicher, nicht so undurchsichtig wie die tiefliegenden. Der Rand ist meist ziemlich scharf, dagegen nicht immer kreisrund, sondern auch häufig gezackt und zerrissen.

In Bouillonkulturen haben die Streptokokken ein makroskopisch sehr verschiedenes Wachsthum. Bald trüben sie die Nährflüssigkeit völlig, bald lassen sie sie klar und bilden nur einen krümeligen oder flockigen Niederschlag.

Sehr häufig bilden sich in Bouillon ganz besonders lange Ketten aus, die, nach GRAM gefärbt, ausserordentlich schöne Bilder ergeben können.

Litteratur: FLÜGGE (Mikroorganismen), GÜNTHER (Einführung in das Studium der Bakteriologie), MIGULA (Bakteriensystematik), HEIM (Technik der Bakteriologie), VON LINGELSHEIM (Zeit. Hyg., Bd. 10, 1891; Bd. 12, 1892), KURTH (Arb. kais. Gesundheitsamt, Bd. 7, 1891).

Heymann, Breslau.

Streptokokken des Ulcus molle. Die von DUCREY[6, 7]) zuerst im Sekrete des Ulcus molle, später von KREFTING[9]) im Sekrete des virulenten Bubo als Erreger beschriebenen Bacillen, feine Stäbchen von etwa 1,48 μ Länge, 0,50 μ Breite, kurz und gedrungen, an den Ecken schön abgerundet, intracellulär gelagert, färben sich gut in alkoholischen Lösungen von Fuchsin, Methylviolett und Gentianaviolett. KREFTING empfiehlt als besonders geeignet SAHLI's Boraxmethylenblaulösung (16,0 $5^0/_0$ige Boraxlösung, 20,0 gesättigte wässerige Methylenblaulösung, 24,0 Aq. dest.).

UNNA[13]) wies späterhin einen stets in Kettenform angeordneten, nur ausnahmweise in Eiterkörperchen gelegenen »Streptobacillus« in Schnitten des Ulcus molle nach, der $1^1/_4$—2 μ Länge, $^1/_3$ μ Breite aufweist und an den Ecken nicht abgerundet ist. Die Untersuchungen QUINQUAUD's und NICOLLE's[12]), PETERSEN's[11]) und BUSCHKE's[3]) bestätigten UNNA's Streptobacillenbefunde. Die Identität des DUCREY-KREFTING'schen und des UNNA'schen Bacillus wurde von UNNA[12]), der die Differenzen in der Grösse und Struktur auf verschiedene Entwicklungsstadien zurückführt, von DUCREY selbst[8]), CHEINISSE[4]), COLOMBINI[5]), BUSCHKE[3]) als sicher anerkannt, während für andere (PETERSEN[11]) ihre Identität nicht als erwiesen gilt.

Darstellen lässt sich UNNA's Streptobacillus in Schnitten auf folgende Weise:

1. Behandlung der aus Alkoholhärtung kommenden Schnitte in folgender zusammengesetzter Methylenblaulösung: Methylenblau, Kalii carbon. aa. 1,0, Aq. dest. 100,0, Spiritus 20,0. M. Coque ad remanent 100,0, adde Methylenblau, Boracis aa. 1,0 in Aqua dest. 100,0. Soluta misce.

2. Abtrocknen der überfärbten Schnitte auf dem Objektträger mit Löschpapier.

3. Entfärben einige Sekunden in UNNA's Glycerinäthermischung (von SCHUCHARDT in Görlitz).

4. Erneutes Abtrocknen.

5. Alk. abs., Bergamottöl, Kanadabalsam.

PETERSEN[11]) färbt 24 Stunden in obiger Methylenblaulösung, entfärbt 3 Minuten in Anilinöl und lässt die Schnitte dann 2 Stunden in Anilinöl-Xylol aa. Er unterlässt ganz die Anwendung von Alkohol und trocknet die Schnitte zwischen den einzelnen Proceduren wie UNNA mit Fliesspapier.

AUDRY[1]) färbt die aus Alkoholhärtung kommenden Schnitte mehrere Minuten in SAHLI's Boraxmethylenblau (s. o.). Bringt die Schnitte dann in konc. wässer. Tanninlösung, hierauf in Alkohol und Bergamottöl.

LOTH[10]) empfiehlt (aus UNNA's Laboratorium) und zwar für Schnitte aus Formolhärtung (2—24 Stunden) und nachfolgender Nachbehandlung in aufsteigendem Alkohol und Celloidineinbettung:

A. 1. Polychromes Methylenblau (GRÜBLER). 5 Minuten. 2. Abwaschen in Wasser. 3. Entfärben in verdünnter Glycerinäthermischung. 4. Gründliches Abspülen in Wasser. 5. $80^0/_0$iger Alkohol, Alkoholäther, Alk. abs., Oel, Balsam.

B. 1. und 2. wie bei *A.* 3. 1 Minute in 1%iger Lösung von rothem Blutlaugensalz. 4. Abwaschen in Wasser. 5. Alkohol abs.. dann auf dem Objektträger: 6. Trocknen und Entfärben in 1%igem salzsaurem Anilinöl. 7. Alkohol, Xylol, Balsam.

C. 1. und 2. wie bei *A.* 3. Entfärben in Tannin-Orangelösung (Grübler) bis die Schnitte gelb werden. 4. Auswaschen in Wasser. 5. Alkohol, Oel, Balsam.

A giebt neben der Bacillenfärbung eine besonders gute Färbung der Plasma- und Bindegewebszellen.

B gestattet ein besonders gutes Hervortreten der Bacillenketten auf diffus blassblauem Grunde.

Bei *C* erscheinen die Bacillen blau auf gelbem Grunde, die Kerne sind gleichfalls gefärbt.

In jüngster Zeit berichten Besançon, Griffon und le Sound[2]) über positive Kulturversuche des Ducrey'schen Bacillus auf Blutserumagar. Bis jetzt ist eine Bestätigung dieser Befunde noch nicht erfolgt.

Litteratur: [1]) Audry (Mon. prakt. Dermat, 1895, Bd. 20), [2]) Besançon, Griffon u. le Sound (Ann. derm. syph., 1901), [3]) Buschke (Verh. der V. Congresses der deutschen dermat, Ges., 1896), [4]) Cheinisse (Ann. dermat. syph., 1894), [5]) Colombini (Giorn. ital. mal. ven. pelle. 1896), [6]) Ducrey (Verh. des III. internat. Dermatologencongresses, Paris 1889), [7]) Ducrey (Mon. prakt. Dermat., Bd. 9, 1889), [8]) Ducrey (ebenda, Bd. 21, 1895), [9]) Krefting (Arch. Dermat. Syph. Bd. 24. 1892), [10]) Loth (Mon. prakt, Dermat., Bd. 26, 1898), [11]) Petersen (Cent. Bakt., Bd. 13, 1893), [12]) Quinquaud und Nicolle (Ann. dermat. syph., 1892), [13]) Unna (Mon. prakt. Dermat., Bd. 14, 1892), [14]) Unna (ebenda, Bd. 21, 1895). *Juliusberg.* Frankfurt a.M.

Strontiumbichromat siehe Chromsaure Salze.

Strychnin. Das Strychnin findet sich an Apfelsäure gebunden in den verschiedensten Strychnosarten, vor allem in den Samen von Strychnos nux vomica, aus denen es durch Auskochen mit verdünntem Alkohol gewonnen wird. Verwendnng findet es in der Form des salpetersauren Salzes, Strychninum nitricum, $C_{21} H_{22} N_2 O_2, H NO_3$. Farblose Nadeln von intensiv bitterem Geschmack, die mit neutraler Reaktion zu etwas über 1% in Wasser und Alkohol löslich sind. Spuren von Strychnin liefern mit starker Schwefelsäure und Kaliumbichromat intensive Blaufärbung.

Das Strychnin bewirkt bekanntlich eine starke Erhöhung der Reflexerregbarkeit, so dass die leiseste Berührung starke Krämpfe hervorruft. Die gewöhnliche Dose für ein Kaninchen beträgt ungefähr 1/4 Ccm. einer 1%igen Lösung. Nach Wolff soll nach subkutaner Injektion geringer Mengen von Strychnin die vitale Färbung mit Methylenblau viel leichter gelingen. Schürmayer benutzt Strychninlösungen von 0.1‰ zur Lähmung von Infusorien.

Litteratur: Wolff (Arch. Anat. 1902), Schürmayer (Jena. Zeit. Nat., Bd. 24, 1890).

Styrax, Storax, wird erhalten aus der Rinde von Liquidambar orientale. Im Handel finden sich zwei Arten, flüssiger und pulverförmiger Styrax. Für die Mikrotechnik kommt nur der erstere in Frage, der eine zähe, dicke graue Masse von unangenehmem Geruch darstellt. Zur Reinigung löst man ihn nach Witt in Aether und behandelt mit geschmolzenem Chlorcalcium, es resultirt dann eine tiefbraune dicke Flüssigkeit, deren wesentliche Bestandtheile sind: Styracin, zwei Storesine, ein Harz und zwei Zimmtsäureester. Behandelt man den gereinigten Styrax wiederholt mit Petroleumäther, so erhält man nach dem Abdestilliren des letzteren ein farbloses Oel und ein festes. dunkelbraunes Harz. Dieses letztere wird in Benzol gelöst, der Lösung setzt man so lange Petroleumbenzin zu, bis sie weingelb wird, filtrirt und destillirt das Filtrat. Man erhält dann ein fast farbloses Harz, das von Witt als Styresin bezeichnet wird.

Der gereinigte Styrax ist von van Heurck als Einschlussmedium für Diatomeen wegen seines hohen Brechungsindex (1,582) empfohlen worden.

Als Lösungsmittel empfiehlt WITT Terpentinöl, DEBES Xylol, Benzol, Toluol oder Benzin, MARSSON Monobromnaphthalin. Nach FRANCOTTE eignet er sich auch sehr gut für histologische Präparate, besonders für solche, welche photographirt werden sollen.

Litteratur: WITT (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), VAN HEURCK (Bull. Soc. Belge Micr., Bd. 10, 1884), FRANCOTTE (ebenda, Bd. 13, 1887), DEBES (Hedwigia, Bd. 24, 1885), MARSSON (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888).

Styron, Zimmtalkohol, Phenylallylalkohol, $C_6H_5 . CH = CH — CH_2 . OH$, aus dem Styracin gewonnen, bildet farblose, angenehm riechende Nadeln, die bei 33⁰ schmelzen, in Wasser schwer, in Alkohol und Aether leicht löslich sind.

Von UNNA zum Differenziren von Methylenblaupräparaten empfohlen. (Näheres siehe Mastzellen.)

Sublimat. Mit diesem Namen wird allgemein das Hydrargyrum bichloratum, das Quecksilbersublimat, $Hg Cl_2$, bezeichnet. Es bildet farblose Krystalle, die im Verhältniss 1 : 16 in Wasser, im Verhältniss von 1 : 4 in Alkohol (abs.) und Aether löslich sind. Die wässerige Lösung des neutralen Salzes reagirt sauer, weil ein Theil des Körpers hydrolytisch gespalten wird. Haltbarer ist koncentrirte wässerige Sublimatlösung bei Kochsalzzusatz. Dabei entsteht ein Quecksilber-Natriumdoppelsalz, das sich in für uns wesentlichen Punkten vom Sublimat unterscheidet. Durch Jod (in alkoholischer Lösung) oder Jodkali wird das Quecksilberbichlorid in das in Wasser schwer, in Alkohol leicht, ebenso in Jodkalilösung leichtlösliche Quecksilberjodid übergeführt, und zwar nicht nur das freie Sublimat, sondern auch das chemisch mit den Gewebebestandtheilen verbundene, wobei auch bei Jodkaliüberschuss die gefällten Eiweisskörper etc. theilweise wieder löslich werden. Was bei der Fixirung der Gewebe entsteht, sind Verbindungen des Sublimats mit den genuinen Eiweisskörpern, Albumosen etc., die zumeist, bei schwächerer Koncentration des Sublimats speciell in saurer Lösung, in Wasser und Alkohol unlöslich sind. Das Chlornatriumquecksilberdoppelsalz, wie es in den mit physiologischer Kochsalzlösung angefertigten Sublimatlösungen vorliegt, bildet dagegen zumeist wasserlösliche Verbindungen; um eine genügende Fällung zu erzielen, muss also bei diesen Lösungen ein Sublimatüberschuss vorhanden sein und wird ein ansehnlicher Aciditätsgrad sich sehr vortheilhaft erweisen.*) Diese Verhältnisse kommen bei dem Salzgehalt der Gewebe namentlich für schwächere Sublimatlösungen sehr in Betracht.

Das Quecksilbersublimat ward schon vor langer Zeit in der Konservirungstechnik benützt, so von KEUFFEL (1810) und HARTING 1859. Eine allgemeine Anwendung zur Fixirung mikroskopischer Strukturen ward durch A. LANG (1878) veranlasst, die in neuerer Zeit einen mächtigen Impuls durch M. HEIDENHAIN's Empfehlung erhielt, so dass Sublimat und Sublimatgemische auch jetzt noch zu den am meisten verwandten Fixirungsflüssigkeiten gehören. In den letzten Jahren ist aber das Sublimat, in wässeriger und alkoholischer Lösung namentlich, aber auch in vielen Gemischen, sehr in Misskredit gekommen, so sehr, dass es von verschiedenen Autoren als entbehrliches Mittel bezeichnet worden ist.

---

*) Versetzt man eine filtrirte, klare Eiweisslösung mit wässeriger Sublimatlösung, so entsteht ein weisser, voluminöser Niederschlag von Sublimateiweiss, der sich auf Zusatz von Kochsalzlösung sofort vollständig löst. Giebt man zu der mit Kochsalz versetzten Eiweisslösung Sublimat, so entsteht keine Fällung und ebensowenig, wenn man der Eiweisslösung eine Sublimat-Kochsalzlösung zufügt. Bei der minimalen Löslichkeit von Kochsalz in Alkohol (absol.) ist es zwecklos, mit alkoholischer Sublimatlösung Versuche anzustellen. Die beweisenden Versuche verdanke ich der Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. C. PAAL.

A. Fischer rechnet das Sublimat zu den Nukleïnsäure, Serumalbumin und Deuteroalbumose fällenden Mitteln, deren Fällungen in Wasser ganz unlöslich sind, und meint, es könne jedenfalls sehr zahlreiche Artefakte herbeiführen. K. Tellyesniczky traf bei Anwendung des Sublimats ein ausserordentliches Zusammenschrumpfen des Plasmas an, wobei die Kerne ziemlich regelmässig sind und zur diffusen, dunklen Färbung neigen. Von der Masse des Plasmas fehlt gewöhnlich sehr viel, die Kernmasse scheint unversehrt zu sein. Schon vor ihm hat Bolles Lee in seinem Vademecum eindringlich vor dem Sublimat gewarnt, und noch früher ein so feiner Techniker wie C. Rabl geurtheilt, dass reine Sublimatlösung die Embryonen stets stark verschrumpfen mache. Auch M. Heidenhain, der einst das Sublimat so warm empfohlen, hat in neuerer Zeit »weniger günstige Resultate« damit gehabt und eigenartige Schrumpfungen erhalten und dann bei Hoden das Mittel unbrauchbar gefunden; er glaubt, dass »ein Theil Zellensubstanz mit dem Sublimat in Lösung geht«. W. von Wasielewski hält Sublimat nicht für so unbrauchbar wie Tellyesniczky, wohl aber für »durchaus entbehrlich«, da es keinen speciellen Vorzug aufweise, namentlich aber den Zellenleib schlecht fixire.

Angewandt worden ist das wässerige Sublimat zumeist in koncentrirter, resp. übersättigter Lösung; bald kalt, bald heiss (A. Lang). Für Würmer ist es wiederholt besonders empfohlen worden (F. v. Wagner für Myzostoma; Montgomery für Nemertinen); A. Brauer hat es für Gymnophionenembryonen insoferne für gut befunden, als sich diese leichter vom Dotter lösen liessen, nicht aber was die Konservirung anlangt.

Bessere Resultate scheinen alkoholische Lösungen zu geben, indessen sind diese nie viel angewandt worden ausser für Arthropoden, wo sie ganz brauchbare Bilder liefern. Hervorzuheben sind die sehr schlechten Resultate, die Sublimat für das Zellprotoplasma der Nieren- und Sexualzellen zeigt, wo ihm ein so zweifelhaftes Mittel wie Formol noch überlegen ist.

Die Sublimatkochsalzlösung ist fast nur so bereitet worden, dass eine 0,5—0,75%ige Kochsalzlösung mit dem schweren Metallsalz gesättigt wurde, wobei sich 9% lösen. Ueber die chemische Natur dieser Lösung und ihr Verhalten zum Eiweiss haben wir uns schon oben geäussert. Auch das Doppelsalz stellt ein starkes Zellgift dar, das schneller eindringt als das Quecksilbersalz, da es zumeist wasserlösliche Verbindungen bildet, also nicht durch die Fällungen am Vordringen gehindert wird.

Wir halten es nicht für angebracht, die bisher angeführten Anwendungsformen ausführlicher zu besprechen. Es empfiehlt sich eben nach dem Stand unserer Kenntnisse nicht, diese Lösungen allgemeiner anzuwenden, da sie weit hinter der Sublimatessigsäure zurückstehen, und diese fast in allen Fällen anwendbar ist, wo wegen der Färbung andere Salze oder Säuren nicht verwandt werden sollen. Für Blutdeckglaspräparate, wofür sie ja auch schon empfohlen wurde, haben wir alkoholische Sublimatlösung für gut befunden. Ueber die Konservirungsmethode Apáthy's, 3 Sublimat, $\frac{1}{2}$ Kochsalz in 100 Theilen 50%igen Alkohols für Würmer und die darauffolgende Färbung mit Goldchlorid-Ameisensäure, siehe pag. 933.

Kultschitzky's Meinung, »das Fixiren muss so kurze Zeit als möglich dauern«, gilt in erster Linie für Sublimat. Sind die Stücke »durch«, so kann ein längeres Verweilen nur Niederschläge erzeugen, absolut nichts nützen, da die Verbindungen mit dem Quecksilbersalz sofort quantitativ eintreten.

Eine genauere Darlegung verlangt aber die Nachbehandlung von Objekten, zu deren Fixirung Sublimat ausschliesslich oder in Gemischen verwendet worden ist. Da zumeist koncentrirte oder doch starke Lösungen des Salzes benützt werden, so entstehen in den Geweben krystalline Nieder-

schläge, namentlich nach längerem Verweilen in der Fixirungsflüssigkeit. Dabei kann es sich um einfache Sublimatkrystalle, wie in den histologischen Werken allgemein angenommen wird, nicht handeln, da sie sich trotz der leichten Lösbarkeit des Sublimats in Alkohol mit diesem nicht entfernen lassen. Diese Krystalle könnten durch Umsetzung des Quecksilberbichlorids mit den in den Geweben enthaltenen Alkaliphosphaten entstehen, auch die Bildung anderer schwer löslicher, basischer, krystalliner Quecksilbersalze ist nicht ausgeschlossen. Zur Entfernung dieser Niederschläge dienen alkoholische Jod- oder (wässerige) Jodkali-, resp. Jodjodkalilösungen. Jodkali entfernt nicht nur das Sublimat, die krystallin ausgeschiedenen Quecksilberverbindungen, sondern löst auch einen Theil der Sublimatfällungen, das Gleiche thun Jodjodkalilösungen. Auch für Jodlösungen in verdünnterem Alkohol ist das in gewissem Grade anzunehmen. Es ergiebt sich daraus. dass es unangebracht ist, mit dem Jodzusatz zu beginnen, bevor die Objekte stufenweise — mindestens von 10 zu 10% steigend, wenn tadellose Härtungen erzielt werden sollen — in 80%igen Alkohol übergeführt sind. Zunächst kann man reichlich Jod zufügen, später aber stets nur kleinere Mengen, bis keine Entfärbung der Jodlösung mehr eintritt. Hat man zu viel Jod zugesetzt, so ist es eine recht langweilige Sache, dieses wieder zu entfernen, und dies muss geschehen, will man die Färbbarkeit der Objekte nicht beeinträchtigen. Es ist auch gerathen worden, erst nach der Einbettung die Entfernung der Niederschläge vorzunehmen. Während dieselben während der Alkoholhärtung keine in Betracht kommende Störung der Strukturen verursachen, machen sie bei der Paraffineinbettung — wohl wegen ihres durch den absoluten Alkohol nicht entfernbaren Krystallwassers — starke Schrumpfungen und sind auch störend und schädlich, wenn feine Schnitte angefertigt werden sollen. Wir können darnach vor dem Einbetten unjodierter Präparate nur warnen.

Die Zahl der Mischungen, in denen Sublimat einen Bestandtheil bildet, ist nicht gering. Wir wollen zunächst die Sublimatsalzgemische, dann die mit Säuren besprechen.

1. Kali bichromicum-Sublimat hat P. R. Bensley (1896) für Magendrüsen empfohlen in der Zusammensetzung: alkoholischer Sublimatlösung 1 Theil, 2%iger wässeriger Kali bichromicum-Lösung 1 Theil.

H. Hoyer hat für das Infusor Colpidium colpoda Steinii als das beste ein Gemisch von 1 Theil 5%iger wässeriger Sublimatlösung + 2 Theilen einer 2%igen wässerigen Kaliumbichromatlösung befunden, betont indes, dass dieses Mischungsverhältniss nur für diese Species das Optimum sei. — Da Sublimat in seinen Mischungen die Kerne, besonders das Chromatin gut fixirt, Kalibichromat das Protoplasma, so erscheint dieses Gemenge für kleinste Objekte, bei denen die Schnelligkeit des Eindringees nicht in Betracht kommt, rationell.

Müller'sche Flüssigkeit-Sublimat hat P. Foà blutwarm angewandt fürs Blut der Säuger, V. Tirelli fürs Centralnervensystem (Spinalggl vom Hund) der Warmblüter empfohlen. Ein Zusatz von 1—3% Essigsäure scheint mir im allgemeinen besser — über den besonderen Fall der Färbung mit Foàs Safranin-Hämatoxylingemisch fehlt mir eigene Erfahrung.

Kalium bichromicum-Kalium chromicum-Sublimat hat W. H. Cox zur Fixirung und Darstellung der Elemente des Centralnervensystems gebraucht nach der Formel: 5%iges Kalium bichrom. 20, 5%iges Sublimat 20, 8%iges Kal. monochrom. 16, Aq. dest. 30—40; siehe das Nähere pag. 478.

Ueber die Behandlung mit Kalium bichromicum vorbehandelter Stücke nervöser Centralorgane mit 1/4—1/2%iger Sublimatlösung nach Golgi siehe pag. 473.

Sublimat-Cuprum sulfuricum. Nach Lo Bianco: 10%ige wässerige Cuprum sulfuricum Lösung 100 + konc. wässerige Sublimatlösung 10.

2. Sublimat-Osmiumtetroxyd. Nach M. Braun werden Anthozoen gut und gestreckt fixirt durch Uebergiessen einer erhitzten koncentrirten Seewasser Sublimatlösung, der auf je 25 Ccm. 4—5 Tropfen einer 1%igen Osmiumsäurelösung zugefügt sind.

Um Wirbelthiernervengewebe nachträglich zu vergolden, hat St. v. Apáthy empfohlen, dieselben in einem Gemisch von 1 Vol. in ½%iger Kochsalzlösung gesättigter Sublimat- und 1 Vol. 1%iger Osmiumsäurelösung 24 Stunden zu fixiren, dann gründlich auszuwaschen und 12 Stunden in einer mit ½% Jod versetzten 1%igen Jodkalilösung zu bringen. Ueber die Weiterbehandlung siehe pag. 933.

G. Mann empfiehlt Sublimat konc. in physiologischer Kochsalzlösung und 1%ige Osmiumsäure aa, vor dem Gebrauch erst zu mischen.

Für die Nervenenden im Entenschnabel hat L. Szymonowicz u. a. konc. wässerige Sublimatlösung 12 Theile + 2%ige Osmiumsäure 2 Theile benützt.

Einer Mischung von 30 Theilen konc. wässeriger Sublimatlösung fügt W. H. Cox 10 Theile 1%iger Osmiumsäure und 5 Theile Eisessig zu zur Konservirung des Centralnervensystems, nachdem sich bei Versuchen an den Achsencylindern peripherer Nerven dieses Gemenge als das beste erwiesen neben einem zweiten, in dem die halbe Menge der Sublimatlösung durch 15 Theile 5%igen Platinchlorids ersetzt ist. Diese beiden osmiumsäurehaltigen Flüssigkeiten waren einer Sublimat-Formolessigsäure überlegen. Nach 2—3 Tagen sollen die Objekte ausgewaschen, dann in 70%igen Alkohol übertragen werden. Mir will ein 2—3 Tage langes Verweilen in 10%iger Essigsäure nicht unbedenklich erscheinen, auch glaube ich nicht, dass eine so starke Koncentration der theuren Platinchlorwasserstoffsäure zur Erzielung des Einflusses auf die Färbbarkeit nothwendig ist — indes fehlen mir eigene Erfahrungen mit diesen Gemengen, die nach dem Schema der Flemming'schen starken Lösung gebildet sind.

3. Sublimatessigsäure. Der Zusatz von Essigsäure bewirkt vor allem eine energischere Fällung der Eiweissarten und verhindert, dass Kochsalz oder (in der weiteren Behandlung) Jodkali die entstandenen Niederschläge wieder löse. Ferner dringt die Flüssigkeit bedeutend rascher ein und die nukleïnsäurehaltigen Elemente des Kernes erfahren eine gute Fixation durch die organische Säure (Kultschitzky).

Die Anwendung dieser Mischung ist schon alt — A. Lang hat sie 1878, durch eine Angabe Blanchard's angeregt, zuerst für Turbellarien empfohlen nach der Formel: 100 Aqua dest., 6—10 Kochsalz, 5—8 Acid. acet. glac., 4—12 Sublimat — die Koncentration der beiden Reagentien ist eine bei den einzelnen Autoren ausserordentlich wechselnde, von 1 Theil Sublimat und 2 Theilen Essigsäure auf 300 Wasser, wie Pacini angegeben, bis zu 2 Theilen konc. wässeriger Sublimatlösung + 1 Theil Eisessig (Lo Bianco, für Seethiere) und Alkohol und Eisessig aa (W. Schimkewitsch für parasit. Copepoden). Ebenso ist bald Wasser, bald physiol. Kochsalzlösung verwendet worden. Bolles Lee empfiehlt konc. wässerige Sublimatlösung mit 5% Eisessig für Seethiere. Bei diesen wird man von Essigsäure bis zu 5% auch bei längerem Verweilen der Objekte in der Lösung kaum Schädigung zu erwarten haben, für nicht schwer durchdringliche Gewebe von Süsswasser- und Wirbelthieren scheint es mir besser, nicht höher als bis zu höchstens 3% Eisessig zu gehen. Sind aber die Objekte durch besonders derbe Schichten gegen die Reagentien geschützt, wie bei Ascariseiern, oder muss eine besonders rasche Fixation erzielt werden, wie bei Nieren, so kann es vortheilhaft sein, die Essigsäure bis zu 25% (Lang, van Beneden) zu steigern, dann aber die Objekte nur kurze Zeit ihrer Einwirkung auszusetzen.

Die Koncentration der Sublimatlösung kann ohne merkliche Differenzen im Resultate ebenfalls variirt werden, doch ist zumeist koncentrirte Lösung

angewandt worden. Die Verwendung von physiologischer Kochsalzlösung bietet kaum Vortheile, da in stark saurer Lösung auch bei Anwesenheit von Kochsalz die Sublimateiweiss etc.-Verbindungen ausfallen und die Essigsäure für eine rasche Abtödtung der Gewebe sorgt.

Für Arthropoden ist es vorzuziehen, statt wässeriger alkoholische Sublimatlösung mit Essigsäure zu verwenden; O. vom Rath hat auf 200 Alk. abs. 1 Sublimat und 2 Eisessig genommen, mir scheint es besser, mehr Sublimat, etwa 3—5% zu nehmen, auch von 2%iger Essigsäure sah ich bei Alkohol-Sublimat keine schädlichen Folgen.

Sublimat-Essig-Osmiumsäure siehe oben hinter Sublimat-Osmiumsäure.

4. Sublimat-Platinchlorwasserstoffsäure. C. Rabl fand, dass ein Gemenge von 1 Theil 1%iger wässeriger sogenannter »Platinchlorid«lösung, 1 Theil koncentrirter wässeriger Sublimatlösung und 2 Theilen destillirten Wassers eine Flüssigkeit bildet, die jüngere Embryonen vorzüglich fixirt; »in den meisten Fällen kann von einer Schrumpfung überhaupt keine Rede sein«. Weniger Sublimat könne man nehmen, aber nicht weniger Platinchlorid, eher mehr, bis zu 2%.

5. Sublimat-Pikrinsäure. C. Rabl empfahl für ältere Embryonen eine Mischung von koncentrirter wässeriger Sublimatlösung 1, koncentrirter wässeriger Pikrinsäure 1, destillirtem Wasser 2; die Objekte werden dann, je nach ihrer Grösse, einige Stunden bis zwei Tage gewaschen, mit ganz schwachem beginnend, in Alkohol bis 80—90% übergeführt, dann jodirt. v. Ebner hat dieses Gemisch für Geschmacksknospen verwendet; G. Mann giebt an Sublimat koncentr. in phys. Kochsalzlösung 100 + 1 Pikrinsäure, wozu eventuell noch 1 Tannin. K. Tellyesniczky hält diese Mischungen, besonders die Mann'sche mit Tannin, für sehr unglücklich und meint, dass auch die Zugabe von 1% Essigsäure in der vom Rath'schen Pikrin-Sublimatessigsäure (koncentrirte wässerige Pikrinsäure, koncentrirte wässerige Sublimatlösung, am besten in phys. Kochsalzlösung, āā + 1% Eisessig) nicht imstande sei, die plasmazerstörenden Wirkungen des Pikrinsäure-Sublimats aufzuheben; auch v. Wasielewski weiss wenig Gutes diesen nachzusagen. Dagegen ist nur anzuführen, dass von so gewiegten Technikern wie C. Rabl und O. vom Rath angegebene Flüssigkeiten doch auch gewisse Vorzüge haben müssen und J. Schaffer die unverdünnte Mischung von Pikrinsäure und Sublimat in der Weise mit gutem Erfolg angewandt hat, dass er die Objekte aus ihr direkt in Alkohol brachte, wie das auch O. vom Rath empfohlen hat, und dann mit Jodtinktur und Lithionkarbonat Sublimat und Pikrinsäure entfernte. Die Konservirung der Kerne durch diese rasch eindringende Flüssigkeit ist eine recht gute.

Für Stützsubstanzen der Wirbelthiere leistet die Kombination mit Essigsäure entschieden Gutes, ich pflege dabei 1—2% Essigsäure zuzufügen. So fixirte Objekte können ohne Schaden energisch ausgewaschen werden. Sehr angenehm ist es, dass kleinere Mengen von Kalksalzen durch das Gemisch gut entfernt werden, natürlich wird man des Sublimats wegen die Stücke nicht zu lang in der Flüssigkeit lassen, sondern sie in Pikrinsäure mit Essig- oder besser Salpetersäure zur eventuellen weiteren Entkalkung übertragen. Die Färbung mit Karmin, Cochenille und Hämatoxylinfarben giebt nach diesem Gemisch schöne, wohl differenzirte Resultate.

Eine zweizeitliche Anwendung von Sublimat-Essigsäure und Pikrinsäure empfehlen A. Böhm und A. Oppel angelegentlich für Reptilieneier in der Weise, dass die Eier 2—3 Stunden in Sublimateisessig (5% von letzterem) kommen, dann auf 2—12—24 Stunden in koncentrirte wässerige Pikrinsäurelösung. Sie werden jetzt geschält und in 70%igen Alkohol übertragen. Die Konservirung sei tadellos.

6. Sublimat-Pikrinsäure-Osmium-Essigsäure. O. vom Rath: Zu gleichen Theilen koncentrirter wässeriger Sublimat- und koncentrirter wässeriger Pikrinsäurelösung werden 10% einer 2%igen Osmiumsäure und 1% Eisessig zugefügt. Es ist dies eine infolge des Osmiumzusatzes auch das Protoplasma recht wohl konservirendes Gemisch, das in seinen Resultaten natürlich der Pikrin-Essig-Osmiumsäure sehr nahe steht (siehe diese pag. 1107), indes die chromatischen Strukturen der Kerne besser erhält. Diese Fixirung lässt auch die Behandlung mit rohem Holzessig oder mit Tannin zu.

7. Sublimat-Chromsäure. Lo Bianco giebt 2 Vol. einer koncentr. wässerigen Sublimatlösung und 1 Vol. einer 1%igen Chromsäure zusammen; die Mischung wird für kleinere Objekte, speciell Amphibieneier, Reptilienkeimscheiben und Embryonen empfohlen; auch für Molluskenembryonen.

Sublimat-Salpetersäure. K. S. Kostanecki und M. Siedlecki verwenden für Ascaris eine Mischung von koncentrirter wässeriger Snblimatlösung und 3%iger Salpetersäure aa. Sie härten dann in von 30% an steigendem Alkohol und geben Jod zu. A. van Gehuchten und Ch. Nelis konservirten Spinalganglienzellen in dem von Gilson angegebenen Gemenge von 46° Salpetersäure 15, Eisessig 4 Ccm., Sublimat 20 Grm., 60%iger Alkohol 100 Ccm., Aqua dest. 880. Nach ½stündigem Waschen kamen die Objekte direkt in 90% Jodalkohol. Modificirt gebrauchte D. Carazzi diese Flüssigkeit für grüne Austern, indem er zu 1000 Ccm. einer 1%igen Kochsalzlösung 20 Grm. Sublimat, in 100 Ccm. 70%igen Alkohols gelöst, 15 Ccm. koncentrirter Salpetersäure und 5 Ccm. Eisessig zusetzte.

Sublimat-Pikrin-Schwefelsäure. Neben Sublimatessigsäure und koncentrirter wässeriger Sublimatlösung hat A. Lang für marine Gastraeaden und Würmer eine koncentrirte Lösung von Sublimat in Pikrin-Schwefelsäure mit Zusatz von 0—5% Eisessig empfohlen.

Sublimat-Jodsäure. Lavdowsky bezeichnet als ein ausgezeichnetes Mittel zur Untersuchung des dritten Blutelementes 2%ige Jodsäure und koncentrirte wässerige Sublimatlösung āā. »Es quellen nämlich die rothen Blutkörperchen hierdurch nur sehr langsam auf, auch verblassen und platzen sie bedeutend langsamer wie vorhin, die nukleoide Substanz erscheint in ihnen nicht, dagegen treten gerade die Blutplättchen jetzt prächtig hervor«; dieses Citat besagt genug!

Sublimat-doppelchromsaures Kali-Essigsäure und verwandte Gemische. In Nr. 27, pag. 534 der Münch. med. Wochenschr., Bd. 41, 1894 hat K. Zenker empfohlen, zur Fixirung der Müller'schen Flüssigkeit Sublimat und Eisessig zuzusetzen, so dass ein Gemisch von folgender Zusammensetzung entsteht: Sublimat 5,0, Kali bichrom. 2,5, Natr. sulf. 1,0, Eisessig 5, Aq. dest. 100,0. Diese Flüssigkeit verursacht weder Quellung noch Schrumpfung der Gewebe, konservirt ausgezeichnet Plasma wie Kerne ruhender und sich theilender Zellen. Die so fixirten Objekte schneiden sich sehr gut nach Paraffineinbettung und geben vorzügliche Färbungen mit den Hämatoxylin- und Cochenillefarben, wenn gründlich — nach kurzem Aufenthalt in der Flüssigkeit — ausgewaschen auch mit Karminfarben, von denen Pikrokarmin sich am sprödesten verhält.

Sowohl Tellyesniczky, wie auch v. Wasielewski haben die Zenker'sche Flüssigkeit als ausgezeichnet befunden, wenn sie auch nach Wasielewski's Resultaten für Pflanzengewebe nicht so Hervorragendes leistet wie für thierische. Sie hat sich rasch eine grosse Beliebtheit erworben, wird aber in neuester Zeit vielfach durch Müller'sche Flüssigkeit mit Formol verdrängt — ein Gemisch, das ihr nicht entfernt gleichkommt für die Erhaltung feinster Strukturen, namentlich der Kerne.

Die Niederschläge, die sich bei längerem Verweilen der Objekte in Zenker'scher Flüssigkeit bilden, sind sehr schwer entfernbar; diesem Um-

stand ist es zuzuschreiben, dass vielfach versucht wurde, sie zu ersetzen. TELLYESNICZKY meinte, dass Sublimat und Natr. sulfuricum keinerlei Bedeutung hätten und ohne Schaden wegbleiben könnten — dem vermag ich mich nicht anzuschliessen. Auch die halb alkoholische Modifikation KULTSCHITZKY's (Kali bichrom. 2,0, Sublimat 0,25, 2%ige Essigsäure 50, Alkohol von 96% 50, nach einigen Tagen die Bichromatniederschläge abzufiltriren), die weniger Sublimat und Essigsäure enthält, scheint mir nicht das Gleiche zu leisten. Die Modifikation DAHLGREN's (MÜLLER'sche Flüssigkeit, koncentrirte wässerige Sublimatlösung āā. + 5% Eisessig) enthält wesentlich weniger Sublimat und giebt daher weniger Niederschläge.

Mir scheint es gut, für Wirbelthiergewebe im allgemeinen (für marine Organismen gilt dies nicht) weniger Eisessig zu nehmen, nur bis 3%, denn die Gewebe müssen längere Zeit in ZENKER'scher Flüssigkeit verweilen, wenn es sich nicht um ganz kleine Stücke handelt, und da schadet eine koncentrirtere Essigsäure, zumal doch für Gewebe von Warmblütern principiell bei Blutwärme zu fixiren ist.

Will man indessen die Niederschlagsbildung möglichst vermeiden, aber doch die Wirkung der MÜLLER'schen Flüssigkeit für die Schneidbarkeit und gewisse Färbungen nicht missen, so empfiehlt es sich, wenn die Stücke »durch« sind, dieselben in MÜLLER'sche Flüssigkeit zu übertragen und dort noch längere Zeit zu belassen. So behandelt geben sie sehr schöne Eisenhämatoxylin-Markscheidenfärbungen. In den letzten Jahren habe ich sehr viel mit einer Modifikation der ZENKER'schen Flüssigkeit (3% Sublimat, 2% Essigsäure, 0,6% Kochsalz) gearbeitet und war mit dieser ausserordentlich zufrieden, besonders auch bei Konservirung durch arterielle Injektion. Ich wasche die Stücke in fliessendem Wasser 24 Stunden aus, überführe ganz langsam, von 5 zu 5° steigend, oder durch Ueberschichtung in 80—90%igen Alkohol und füge dann Jod zu. Die Entfernung des Sublimats und der anderen Quecksilbersalze durch das Jod erfordert bei grösseren Stücken sehr lange Zeit, oft Wochen, ist aber einem Jodiren der Schnitte nach dem Einbetten in Paraffin unbedingt vorzuziehen, wie ich oben des näheren begründet habe. Sehr schöne Resultate, ausserordentlich scharfe Zellgrenzen liefern injicirte Objekte, wenn der Injektionsgelatine unmittelbar vor der Verwendung bis zu 10% Formol zugesetzt worden ist und die Organstücke nach dem Erstarren der Masse durch die Bildung fester Formolgelatine in die oben angegebene Flüssigkeit kommen. Auch verwende ich die Flüssigkeit seit langer Zeit mit Zusatz von bis 10% Formol direkt vor dem Gebrauch und erhalte so ungemein scharfe, klare Bilder mit exakten Zellkonturen und eine vorzügliche Fixirung des Blutes; — mit Cochenille-Eisenalaun im Stück gefärbt, Präparate wie Stahlstiche.

Anhangsweise sei die Kombination M. LAVDOWSKY's zur Fixation und Aufarbeitung alter Schnitte erwähnt: Chemisch reines Kali bichrom. 20 bis 25 Grm., koncentr. wässerige Sublimatlösung 5—10, 1%ige Essigsäure 500; eventuell noch 4—5 Ccm. Eisessig dazu. Halbverdünnt zum »Beleben alter Präparate, die mit Hämatoxylin-Eisenlackmethoden, besonders der WEIGERTschen, die schönsten Bilder lieferten. Dass altes Material durch die Behandlung mit Kalibichromat oder organischen Säuren, resp. mit beiden bedeutend an Färbbarkeit gewinnt, ist meines Wissens eine recht alte Erfahrung.

Sublimat-Chloroform-Alkohol-Essigsäure. A. P. OHLMACHER fixirt Stücke des Centralnervensystems in Alk. absol. 80, Chloroform 15, Eisessig 5, Sublimat 20 und bringt sie nach $^1/_4$—$^1/_2$stündigem Verweilen in 80%igen Alkohol, dem er später Jod zusetzt.

Sublimat-Essigsäure-Formol. Will man mit dem EHRLICH-BIONDIschen Triacidgemisch färben, so stören die Bestandtheile der MÜLLER'schen

Flüssigkeit. Daher habe ich seit vielen Jahren einer 3%igen bis koncentrirten Sublimatlösung 1% Eisessig und 10% Formol, letzteres unmittelbar vor dem Gebrauch, zugegeben und damit namentlich fürs Blut — bei der entstehenden Verbindung des Formaldehyds mit dem Hämoglobin wohl zu verstehen — recht gute Resultate erzielt. Dieses und ähnliche Gemenge sind seither, zum Theil unabhängig, von verschiedenen Autoren angewandt und empfohlen worden, so von W. H. Cox in der Zusammensetzung von gesättigtem Sublimat 30, Formol 10, Eisessig 5 für Granula der Ganglienzellen, wobei auch wieder die Koncentration der Essigsäure sehr stark genommen ist (über 10%!). Der Autor bemerkt ausdrücklich, dass diese Flüssigkeit die Sublimat-Osmium-Essigsäure-Gemische nicht erreiche an Güte der erhaltenen Bilder.

Litteratur: A. Fischer (Anat. Anz., Bd. 9 u. 10), K. Tellyesniczky (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), M. Heidenhain (Festschr. f. A. v. Kölliker), W. v. Wasielewski (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), P. Foà (Fest. R. Virch. 1891), M. Braun (Zool. Anz., Bd. 9, 1886), G. Mann (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), L. Szymonowicz (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1896), W. H. Cox (Anat. Hefte, H. 31), A. Lang (Zool. Anz., 1878), N. Kultschitzky (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), Lo Bianco (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), W. Schimkewitsch (Zeit. wiss. Zool., Bd. 61, 1896), O. vom Rath (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), W. H. Cox (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891), C. Rabl (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), V. v. Ebner (Sitz. kais. Ak. Wiss. Wien, Bd. 106, 1897), J. Schaeffer (Wien. klin. Woch., Nr. 45, 1896), A. Böhm und A. Oppel (Taschenb. der mikr. Techn., IV. Aufl.), K. S. Kostanecki (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1897), A. van Gehuchten und Ch. Nelis (Cellule, Bd. 14. 1898), D. Carazzi (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 12, 1896), A. Lang (Zool. Anz. 1879), M. Lavdowsky (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), K. Zenker (Münch. med. Woch., Nr. 27, 1894), Kultschitzky (Arch. mikr. Anat., Bd. 49, 1897), Dahlgren (Anat. Anz., Bd. 13. 1897), M. Lavdowsky (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), A. P. Ohlmacher (Centr. Nervenheilk. Psych., 1899). *Spuler*, Erlangen.

Subtraktionsfarben siehe Polarisationsmikroskop.

Sudan III, Cerasinroth, ein Disazofarbstoff, der durch Einwirkung von Amidoazobenzol auf β-Naphtol erhalten wird. Braunes Pulver, das in Wasser unlöslich, in Alkohol und Fetten leicht löslich ist.

Von Daddi zur Fettfärbung in alkoholischer Lösung empfohlen. (Näheres siehe Fett.)

Syphilisbacillen. Da über die von Lustgarten[6]) beschriebenen Syphilisbacillen die Akten noch keineswegs abgeschlossen sind, obwohl speciell die Arbeit von Alvarez und Tavel[1]) bedeutende Zweifel an ihrer Specifität erweckt hat, halten wir es doch für angezeigt, die für diese Bacillen angegebenen Färbemethoden ausführlich anzugeben:

Lustgarten[6]) verfährt in folgender Weise: Härtung der Präparate in Alkohol abs., Einbettung in Celloidin. Die Schnitte werden durch mehrstündiges Verweilen in Aetheralkohol celloidinfrei gemacht und in Alkohol abs. aufbewahrt. Das Färbeverfahren gestaltet sich folgendermassen: 1. Färben in Gentianaviolettlösung Ehrlich-Weigert (100 Theile Anilinwasser + 10 Theile koncentrirter alkoholischer Gentianaviolettlösung) 12—24 Stunden bei Zimmertemperatur, darauf 2 Stunden bei 40° C. im Wärmekasten. 2. Abspülen mehrere Minuten in Alkohol abs. 3. Entfärben zunächst 10 Sekunden in $1^1/_2$%iger wässeriger Lösung von Kal. permang., darauf in einer wässerigen Lösung von reiner schwefeliger Säure. Diese beiden Entfärbungen werden alternirend (3—4mal) ausgeführt, bis der Schnitt farblos erscheint. 4. Abspülen in Wasser. 5. Alkohol, Nelkenöl, Xylol-Kanadabalsam.

Doutrelepont[2, 3]) giebt folgendes Verfahren an: Härtung der Stücke in Alkohol abs., Aufweichen des gehärteten Stückes 10 Minuten in Wasser. Schneiden mit dem Gefriermikrotom. Die Schnitte werden zunächst in $^1/_2$%ige Kochsalzlösung, dann in Alkohol abs. gebracht. Die Färbung erfolgt folgendermassen: 1. 24—48 Stunden in 1%iger wässeriger Gentiana-

violett- oder Methylviolett (6 B)-Lösung. 2. Bewegen der Schnitte einige Sekunden in Salpetersäurewasser 1 : 15. 3. 5—10 Minuten Alkohol 60%, nach 5 Minuten Erneuern des Alkohols. 4. Blassveilchenblau kommen die Schnitte in schwachwässerige (stets frisch zu bereitende) Safraninlösung, in der sie nach einigen Minuten intensiv roth werden. 5. Abspülen einige Sekunden in Alkohol 60%. 6. Cedernöl, Kanadabalsam.

De Giacomi[4]) färbt Deckglastrockenpräparate in folgender Weise: 1. Färben mehrere Minuten in heisser Fuchsinlösung. 2. Abspülen in Wasser, dem einige Tropfen wässeriger Eisenchloridlösung zugesetzt sind. 3. Entfärben in koncentrirter Eisenchloridlösung.

Gottstein[5]) hat Giacomi's Methode für Schnittpräparate in folgender Weise modificirt: Die 24 Stunden in Fuchsin (oder Anilingentianaviolett) gefärbten Schnitte werden nach Abspülen in Aqua dest. für einige Sekunden in eine reine oder verdünnte Lösung von Liquor ferri sesquichlorati gebracht, darauf in Alkohol abs. abgespült, in Nelkenöl aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Litteratur: [1]) Alvarez et Tavel (Arch. de physiol., 1885), [2]) Doutrelepont und Schütz (Deutsche med. Woch., 1885), [3]) Doutrelepont (Vierteljahrs. Dermat. u. Syph. 1887), [4]) De Giacomi (Corresp. Schweiz. Aerzte, 1885), [5]) Gottstein (Referat über de Giacomi's Mittheilung [Fort. Med., 1885]), [6]) Lustgarten (Wiener med. Jahrb., 1885).

Juliusberg, Frankfurt a. M.

T.

Talgdrüsen. Zur Untersuchung der Talgdrüsen fixirt Ranvier kleine Stückchen der Gesichtshaut 24 Stunden in 1⁰/₀iger Osmiumsäure oder in Müller'scher Flüssigkeit. Altmann bedient sich ebenfalls der reinen Osmiumsäure oder seines Osmiumbichromatgemisches, Bauer fixirt in koncentrirter Sublimatlösung oder in Alkohol. Zum Studium der Fettsekretion empfiehlt Altmann die Präputialdrüsen, die Analdrüsen von Kaninchen und Meerschweinchen und die Bürzeldrüse der Vögel.

Zur Untersuchung der Ohrschmalzdrüsen empfiehlt Stöhr besonders Fixation des knorpeligen Gehörganges von Neugeborenen in absolutem Alkohol, Pissot verwendet für den gleichen Zweck Zenker'sche Flüssigkeit. (Vergl. auch den Artikel Schweissdrüsen.)

Litteratur: Ranvier (Journ. Micrograph., Bd. 10, 1886), Altmann (Arch. Anat. Suppl., 1889), derselbe (Die Elementarorganismen. 2. Aufl., Leipzig 1894), Bauer (Morph. Arb., Bd. 3, 1894), Stöhr (Lehrbuch der Histologie, 8. Aufl., Jena 1898), Pissot (Essai sur les glandes du conduit auditif externe. Thèse. Paris 1899).

Tannin, Gerbsäure, Gallusgerbsäure, Digallussäure, Acidum tannic., $\begin{matrix} C_6 H_2 (OH)_3 - CO \\ C_6 H_2 (OH)_3 - CO \end{matrix} \Big\rangle O$, findet sich hauptsächlich in den durch den Stich verschiedener Gallwespen an den Früchten und Zweigen mancher Quercusarten hervorgerufenen Galläpfeln. Sie bildet ein farbloses oder schwach gelbliches Pulver, das sich beim Stehen am Licht braun färbt. Sie löst sich in Wasser zu 100⁰/₀, in absol. Alkohol zu 50⁰/₀, in Glycerin zu 12⁰/₀, in Aether, Chloroform, Benzol und ätherischen Oelen ist sie unlöslich. Ihre Lösung reagirt sauer. Mit Eisenoxydsalzen bildet sie einen schwarzblauen Niederschlag von gerbsaurem Eisenoxyd, ähnlich verhält sie sich zu den Salzen der Vanadinsäure. Die wässerige Lösung der Gerbsäure fällt Eiweiss, Stärke und Leim.

In der technischen Färberei wird das Tannin in ausgedehntem Masse als Beize verwandt, einmal um Metalloxyde wie Eisenoxyd, Zinnoxyd, Thonerde, in Form der unlöslichen Tannate auf der Faser zu fixiren; ferner bildet es mit basischen Farbstoffen unlösliche Farblacke, deren Entstehung durch die Anwesenheit eines Metalloxyds noch erleichtert wird, indem die überschüssige Säure als Metalltannat unschädlich gemacht wird. Baumwolle wird gewöhnlich zunächst mit Gerbsäure behandelt, dann wird die letztere durch Eisenchlorid fixirt. Bei der nun folgenden Färbung findet eine Zersetzung statt, ein Theil der Säure giebt mit der Farbbase den unlöslichen Lack, ein anderer bleibt an das Metalloxyd gebunden. Ein sehr beliebtes Fixationsmittel für Gerbsäure ist auch der Brechweinstein.

In der Mikrotechnik haben die werthvollen Eigenschaften der Gerbsäure mannigfache Verwendung gefunden. Was zunächst ihre Fähigkeit, mit Metallsalzen unlösliche Tannate zu bilden, anbetrifft, so hat man sie für Eisenchlorid und Ammoniumvanadat benutzt (siehe dort). Aber auch für basische Farbstoffe ist das Tannin eine beliebte Beize; so beizt Laveran Methylenblaupräparate, Unna Fuchsin, Harris Toluidinblau damit. Auch die

Kombination von Gerbsäure und Metalloxyd als Beize hat Anklang gefunden. RAWITZ beizt Schnitte von Flemmingmaterial zunächst 24 Stunden in einer 20%igen Tanninlösung, spült in Wasser ab und überträgt in 1- bis 2½%ige Lösung von Brechweinstein für 2—3 Stunden bei 40° oder 24 Stunden bei Zimmertemperatur, dann sorgfältig abspülen und Färben in einer Lösung, die aus gleichen Theilen destillirten Wassers und koncentrirter alkoholischer Fuchsin- oder Methylviolettlösung besteht. Färbung 24 Stunden, flüchtig in Wasser abspülen und differenziren in 96%igem Alkohol. Es färbt sich dann das Plasma mit dem basischen Farbstoff. ZEITLIN verwendet statt der 20%igen eine 10%ige Tanninlösung und säuert mit 1%iger Essigsäure an. Zur Färbung nimmt er koncentrirte wässerige Safraninlösung. Ausgedehnter Gebrauch von der beizenden Kraft des Tannins wird auch in der Technik der Geisselfärbung gemacht (siehe dort). Nach ZETTNOW erhält man für diesen Zweck eine Universalbeize, wenn man zu einer frisch bereiteten 35—45° warmen 5%igen Tanninlösung so lang 1%ige Lösung von Brechweinstein zusetzt, bis ein bleibender Niederschlag entsteht, der sich beim weiteren Erwärmen wieder löst. In der Kälte soll die Flüssigkeit opalesciren, aber nicht undurchsichtig sein. Die Beize wird heiss angewandt. (Siehe auch Gerbstoffe in Pflanzen.)

Litteratur: LAVERAN (C. r. Soc. Biol. [11], Bd. 1, 1899), UNNA (Mon. prakt. Derm., Bd. 20, 1895), HARRIS (Philadelph. Med. Journ., 1898), RAWITZ (Sitz. Ges. Nat. Fr., Berlin 1894), ZEITLIN (Warschauer Universitätsnachrichten, 1898), ZETTNOW (Zeit. Hyg., Bd. 30, 1899).

Taurin, $CH_2 . NH_2 — CH_2 — SO_3H$, Spaltungsprodukt der Taurocholsäure, findet sich im freien Zustande in Lunge und Niere des Rindes, im Blut von Haien und Rochen. Auch in den Exkrementen ist es enthalten. Mikroskopisch ist es sehr leicht an den charakteristischen monoklinen wasserhellen Säulen zu erkennen.

Terpentin, der Harzsaft verschiedener Larixarten, Pinus maritima aus Frankreich, Pinus silvestris aus Russland und Deutschland, Pinus strobus aus Amerika, Pinus larix aus Südtirol. Der gewöhnliche Terpentin stellt eine zähe, dickflüssige gelbliche Masse dar von saurer Reaktion. Er enthält Terpentinöl, Fichtenharz und Wasser. Der venetianische Terpentin (aus Pinus larix) ist frei von Wasser und völlig durchsichtig. Er ist klar in Terpentinöl, 80%igem Alkohol, Chloroform und Aether löslich.

Der Terpentin wird zur Herstellung von Deckglaskitten verwendet. Der venetianische Terpentin ist in alkoholischer Lösung von VOSSELER als Einschlussmittel empfohlen worden. Man mischt den käuflichen venetianischen Terpentin in einem hohen Cylinder mit dem gleichen Volum 96%igen Alkohols und lässt 3—4 Wochen stehen. SUCHANNEK verwendet absoluten Alkohol zur Lösung, der vorher durch gebrannten Kalk neutralisirt ist. (Siehe auch pag. 181.)

Litteratur: VOSSELER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), SUCHANNEK (ebenda, Bd. 7, 1890).

Terpentinöl, Terpentinspiritus, Oleum terebinthinae, wird durch Destillation des Terpentins gewonnen. Es ist eine farblose, neutrale, intensiv riechende Flüssigkeit vom specifischen Gewichte 0,86, die in Wasser unlöslich, in absolutem Alkohol, Chloroform, Aether, Schwefelkohlenstoff, fetten und ätherischen Oelen in jedem Verhältniss löslich ist. Es ist ein vorzügliches Solvens für viele organische (Harze, Fette) und manche anorganische (Schwefel, Phosphor) Körper. An Luft und Licht nimmt es unter Sauerstoffaufnahme saure Reaktion an und wird dickflüssig (verharztes Terpentinöl). Der absorbirte Sauerstoff giebt die Reaktionen des Ozons. Das Terpentinöl besteht hauptsächlich aus Terpenen der Pinengruppe.

In der Mikrotechnik wird das Terpentinöl einmal als Intermedium zur Paraffineinbettung benutzt, doch steht es in dieser Beziehung dem Chloro-

form und Xylol bedeutend nach. Es löst osmirtes Fett sehr rasch und macht viele Objekte sehr brüchig. Ferner dient es als Lösungsmittel für viele Einschlussmittel, wie Kanadabalsam, Damarlack, Styrax etc. Es empfiehlt sich auch in dieser Hinsicht sehr wenig, da es den meisten Farben gefährlich wird.

Testobjekte, Herstellung siehe Diatomeen.

Tetanus. Der Erreger des Wundstarrkrampfes ist ein Stäbchen von schwankenden Dimensionen, das häufig mit einer endständigen runden Spore versehen ist. Die Ecken des Stäbchens sind abgerundet. In künstlichen Kulturen, besonders Bouillonkulturen, wachsen die Stäbchen bei niederer Temperatur (20—25°) häufig zu langen Fäden aus, zeigen aber geringe Neigung zur Sporenbildung, während sich bei höheren Temperaturen (37 bis 39°) kürzere Individuen mit Sporen bilden.

Der Tetanusbacillus findet sich im Staub, der Gartenerde u. s. w., ist da aber auf mikroskopischem Wege nicht nachweisbar. Hingegen gelingt der Nachweis an der inficirten Stelle des erkrankten Menschen oder Thieres meist ohne erhebliche Schwierigkeiten in Ausstrichpräparaten aus dem membranös-eiterigen Belage. Dieselben kann man mit verdünntem Fuchsin oder nach Gram färben. Nach ersterer Methode färben sich auch die Sporen gut, während dieselben in Gram-Präparaten weniger gut hervortreten. Eine isolirte Sporenfärbung erzielt man auf folgende Weise: Die reichlich beschickten Präparate werden sorgfältig fixirt (3—5mal durch die Flamme ziehen), sodann in frischer koncentrirter Anilinwasserfuchsinlösung, die bis zum Blasenspringen erhitzt wird, 3—4 Minuten lang gefärbt. (Die Farblösung wird so bereitet, dass man 100 Ccm. Wasser mit 5 Ccm. Anilinöl 5 Minuten lang schüttelt, filtrirt und 11 Ccm. koncentrirter alkoholischer Fuchsinlösung zusetzt.) Sodann entfärben durch kurzes Eintauchen nacheinander in absoluten Alkohol, in salzsauren Alkohol (100 Ccm. 90%igen Alkohol + 1 Ccm. koncentrirter Salzsäure) oder in 1%ige Essigsäure, schliesslich in 60%igen Alkohol bis zur Mattrosafärbung. Nachfärben mit wässerigem Methylenblau 5—10 Sekunden lang.

Auch die Ehrlich'sche Sporenfärbungsmethode ist gut anwendbar: Andauernde Färbung in erwärmter Ziehl'scher Lösung, Abspülen in 25%iger Schwefelsäure, Gegenfärbung mit Methylenblau 5—10 Sekunden.

Die Tetanusbacillen sind beweglich; die Bewegung geschieht durch 8—10 seitenständige Geisseln. Die Färbung derselben ist mit den verschiedenen Methoden der Geisselfärbung (s. diese) ausführbar. Neuerdings empfiehlt Peppler zur Färbung der Geisseln sowohl von Tetanus als anderer Bacillen eine Modifikation der Löffler'schen Methode. Seine Technik ist folgende:

Die Reinigung der Objektträger, die Peppler den Deckgläsern vorzieht, geschieht auf folgende Weise: ½stündiges Kochen in 4%iger Kaliumpermanganatlösung (unter häufigem Umrühren); darauf ½stündiges Kochen in 20%iger Salzsäure, darauf gutes Abspülen mit Wasser, bis alle Säure entfernt ist, wovon man sich mittels Lackmuspapiers überzeugt. Darauf ausgiebiges Abspülen in mehrfach gewechseltem koncentrirten Alkohol, der von den Objektträgern nicht abgetrocknet, sondern abgebrannt werden muss.

Auf einen so gereinigten Objektträger bringt man einen grossen Tropfen Wasser und beschickt diesen mit einer grossen Menge Kultur. Bei Tetanus eignet sich eine 3—4tägige, bei 37° gewachsene Kultur. In dem so beschickten Tropfen lässt man das Material einige Minuten weichen, ohne stärker umzurühren, und bringt dann davon auf einen zweiten Objektträger eine kleine Oese auf, die durch 2—4maliges Darüberstreichen vorsichtig vertheilt wird.

Dieses Präparat lässt man nunmehr lufttrocken werden, fixirt durch einmaliges Ziehen durch die Flamme und träufelt nun Peppler'sche Beize

(s. unten) auf, die man ohne Erwärmen 1—5 Minuten wirken lässt. Darauf wird mit einem kräftigen Wasserstrahl abgespült und die PEPPLER'sche Farblösung (s. unten) aufgeträufelt, die man 2 Minuten einwirken lässt. Darauf Abspülen mit Wasser, Trocknen u. s. w.

Will man die Geisseln noch dunkler gefärbt erhalten, so kann man nach PEPPLER noch eine Jodjodkalilösung 1 Minute lang zur Bildung einer Pararosanilinverbindung einwirken lassen; doch sollen derartige Präparate nach kurzem abblassen. Die Zusammensetzung der PEPPLER'schen Beize ist folgende: Einer unter gelindem Erwärmen bereiteten Lösung von 20,0 Tannin in 80,0 destillirten Wassers werden, wenn sie auf 20° abgekühlt ist, 15,0 einer wässerigen, schwefelsäurefreien 2,5%igen Chromsäurelösung langsam in kleinen Portionen unter fortwährendem Umschütteln zugefügt. Nach 4- bis 6tägigem Stehen (möglichst bei einer Temperatur von 18—20°) wird durch ein doppeltes Faltenfilter unter Vermeidung stärkerer Abkühlung filtrirt. Die so gewonnene Beize ist eine klare, dunkelbraune Flüssigkeit, welche, ohne dadurch an Beizkraft zu verlieren, einen geringen, hellbraunen Niederschlag fallen lässt, der sich bei einer Temperatur von 20° nach einiger Zeit wieder löst. Wenn nöthig, muss vor dem Gebrauch nochmals filtrirt werden.

Als Farblösung verwendet PEPPLER folgendes Gemisch. Koncentrirte alkoholische Gentianaviolettlösung (5 : 100,0) 10,0, Acid. carbolic. liq. 2,5, Aq. dest. ad 100,0. Die Lösung bleibt einige Tage ruhig stehen und wird dann, ohne aufzuschütteln, filtrirt. Statt Karbolgentianaviolettlösung eignet sich auch eine ebenso hergestellte Karbolfuchsinlösung.

Die mikroskopische Untersuchung von Kolonien des Tetanusbacillus unterliegt grossen Schwierigkeiten, da seine Züchtung nur unter streng anaëroben Bedingungen möglich ist. Die Kolonien haben ein wenig charakteristisches Aussehen, sind gelbliche, runde oder ovale Gebilde mit scharfen Rändern, gelegentlich aber auch mit feinen Ausläufern versehen.

Litteratur: NICOLAIER (Beiträge zur Aetiologie des Wundstarrkrampfes. Inaug.-Diss., Göttingen 1885), KITASATO (Zeit. f. Hyg., Bd. 7, 1889), GÜNTHER (Einführung in das Studium der Bakteriologie), FLÜGGE (Mikroorganismen), MIGULA (Bakteriensystematik), PEPPLER (Centr. Bakt., 1901). *Heymann*, Breslau.

Thalliumsulfat, $Tl_2 SO_4$, bildet rhombische, farblose, in Wasser leicht lösliche Krystalle. Durch lösliche Chlorverbindungen wird aus seiner Lösung unlösliches Thalliumchlorür abgeschieden.

Auf der letzteren Eigenschaft beruht die Verwendung des Thalliumsulfats zum Nachweis von Chlor in Pflanzen (SCHIMPER). In die Mikrotechnik ist es durch HEGLER eingeführt worden, der eine koncentrirte Lösung in dünnem Alkohol zum Nachweis verholzter Pflanzentheile empfohlen hat. Dieselben färben sich darin dunkelgelb.

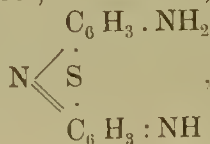
Unter dem Namen Thallinbraun benutzt BURCHARDT eine 5—10%ige wässerige Lösung von Thalliumsulfat zur Kernfärbung. Die Lösung muss erst einige Monate am Licht stehen, um gehörige Färbekraft zu erlangen. Bei Ueberfärbung kann man durch schwach mit Salzsäure angesäuertes Wasser oder Alkohol differenziren.

Litteratur: SCHIMPER (Flora 1890), HEGLER (Bot. Centr., Bd. 38, 1889), BURCHARDT (Centr. allgem. Path., Bd. 5, 1894).

Theobromin siehe Alkaloide.

Thermoregulator siehe Paraffin.

Thionin, LAUTH's Violett, ein Thiazin, Amidodiphenylthiazim (GEIGY),



entsteht durch Oxydation von salzsaurem Paraphenylendiamin bei Gegenwart von Schwefelwasserstoff. Es kommt als Chlorhydrat in den Handel und bildet metallisch glänzende Nadeln, die in Wasser mit blauvioletter Farbe ziemlich schwer, in Alkohol leicht löslich sind. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure blau; mit Natronlauge entsteht ein brauner Niederschlag.

Das Thionin ist als basischer Farbstoff und sehr naher Verwandter des Methylenblaus ein sehr guter Kernfarbstoff. Man wendet es gewöhnlich in stark verdünnter (1 : 1000) wässeriger Lösung, auch schwach alkoholische, karbolsäurehaltige und alkalische Lösungen kommen zur Verwendung.

Thioninlösungen färben sehr rasch. Zur Differenzirung benutzt man 80—90%igen Alkohol, in dem die Farbe stark auszieht.

Das Thionin, von Ehrlich in die Mikrotechnik eingeführt, hat vielfach Verwendung zur Färbung der Schollen in den Nervenzellen gefunden. Nach Harris soll es auch gleich dem Methylenblau das lebende Nervengewebe färben, doch steht es in dieser Beziehung, wie auch Ehrlich, der vor langer Zeit auf diese Eigenschaft aufmerksam gemacht hat, selbst angiebt, dem Methylenblau weit nach.

Nicolle benutzt zur Bakterienfärbung eine Mischung von 100 Theilen 1%igen Karbolwassers und 10 Theilen koncentrirter alkoholischer (50%) Thioninlösung. Färbung 2—5 Minuten, Abspülen in Wasser, Alkohol, Xylol, Balsam. v. Marschalkó empfiehlt zur Färbung der Plasmazellen eine koncentrirte wässerige Thioninlösung, der er auf 30 Ccm. 100 Ccm. 0,5‰iger Kalilauge zusetzt. Entfärben mit Salzsäurealkohol. Eisen benutzt das Thionin in 1%iger Lösung in 10%igem Alkohol zur Vorfärbung für Rutheniumroth (Näheres siehe dort) und Gråberg kombinirt es mit Bordeaux und Methylgrün zu einer Dreifachfärbung. (Näheres siehe **Bordeaux**.) Ueber die Thionin-Pikrinmethode von Schmorl vergl. pag. 671.

Die Hauptbedeutung des Thionins aber liegt in seiner, von Ehrlich entdeckten Eigenschaft, gewisse Substanzen metachromatisch zu färben, über welche man das Nähere in den Artikeln **Amyloidentartung**, **Metachromasie** und **Schleimfärbung** findet.

Den vielen werthvollen Eigenschaften des Farbstoffs steht eine sehr unangenehme gegenüber, die Färbung blasst nämlich schon nach kurzer Zeit gänzlich aus.

Litteratur: Ehrlich (Deutsche Med. Woch., 1886), Harris (Philadelph. Med. Journ., 1898), Nicolle (Annal. Inst. Pasteur, Bd. 9, 1895), v. Marschalkó (Arch. Derm. Syph., Bd. 30, 1895).

Thränendrüse siehe Sehorgan.

Thrombase siehe Enzyme.

Thymianöl entsteht bei der Destillation des blühenden Krautes von Thymus vulgaris. Das rohe Oel ist roth (Ol. Thymi rubr.), das rektificirte stellt eine farblose, dünne Flüssigkeit (Ol. Thymi alb. rectificat.) von angenehmem Geruch dar. Es löst sich in ½—1 Theil Alkohol von 90% und greift Celloidin nicht an. In Wasser ist es etwas löslich. Specifisches Gewicht bei 15° 0,92. Es besteht im wesentlichen aus dem Gemenge eines Terpens mit Cymol und Thymol. Von letzterem kann es bis zu 50% enthalten.

Das Thymianöl wird in Amerika vielfach als Intermedium für Celloidinschnitte benutzt, auch in Mischung mit anderen Oelen. Es hat nach van Gieson den Nachtheil, dass es Hämatoxylin angreift. Bumpus hat es zur Aufhellung von Celloidinblöcken empfohlen. Fish nimmt zu dem gleichen Zweck eine Mischung von 3 Theilen Ol. Thymi rubr. und 1 Theil Ricinusöl. Die Blöcke können in dieser Mischung beliebig lange liegen und die Mischung dient auch zur Befeuchtung des Messers.

Litteratur: van Gieson (Amer. Month. Micr. Journ., Bd. 8, 1887), Bumpus (Amer. Nat., Bd. 26, 1892), Fish (Proc. Amer. Micr. Soc., 1893).

Thymol, Thymiansäure, Thymiankampher, $C_6H_3\begin{cases}CH_3\\C_3H_7\\OH\end{cases}$, Methylisopropylphenol, es findet sich im Thymianöl und wird aus demselben durch Behandeln mit Natronlauge und Zerlegen des gebildeten Thymolnatriums mit Salzsäure erhalten. Es bildet farblose, bei 50° schmelzende und bei 100° verdampfende Krystalle von angenehmem Geruch. In Wasser ist das Thymol höchstens zu 0 1%, in Glycerin zu 0,8% löslich. Leicht löslich ist es in Alkohol (aa.), Aether, Oelen und Alkalien. Mit äquivalenten Mengen Chloralhydrat, Phenol oder Kampher zusammengebracht, bildet es ein flüssiges Gemisch. Alkoholische Thymollösungen reagiren neutral.

Das Thymol findet wegen seiner antiseptischen Eigenschaften auch in der Mikrotechnik viefach Anwendung zur Konservirung leicht verderblicher Farbstofflösungen, Injektionsmassen etc. Meist genügt es, in die betreffende Flüssigkeit einige Thymolkrystalle zu werfen oder sie auf die festen Massen zu legen.

Thymus. Zur mikrotechnischen Bearbeitung der Thymus eignen sich die meisten jener Methoden, welche in den Artikeln Lymphatische Organe, Lymphdrüsen und Milz beschrieben worden sind. Speziell für die Thymus sind noch folgende Detailangaben zu erwähnen: Watney hat in seinen berühmten Untersuchungen über den Bau der Thymus hauptsächlich sein Material tagelang mit 0,15—0,25%iger Chromsäure oder wochen- und monatelang mit Kaliumbichromat behandelt. Ausserdem fixirt er wenige Stunden in 0,5%igem Goldchlorid und überträgt dann für 10—15 Tage in gleiche Theile 0,5%iger Osmiumsäure und 0,2%iger Chromsäure oder in Methylalkohol. Färbung in Alaunhämatoxylin oder Brasilholzextrakt mit Alaun. Macerirt wurde die Thymus in 0,1%iger Osmiumsäure oder mehrere Wochen lang in dünner Bichromatlösung mit Eosinzusatz.

Prenant fixirt embryonale Thymus in Flemming, Sultan in Alkohol oder Müller. Schedel fixirt Thymus von Katze, Ziege und Kalb ebenfalls in Flemming. Für Amphibienthymus empfiehlt Maurer Chromessigsäure, Pikrinschwefel- oder Pikrinosmiumsäure, Ver Eecke Hermann'sche Flüssigkeit. Zur Untersuchung der Thymusentwicklung fixiren Soulier und Verdun Embryonen von Kaninchen und Maulwurf in Pikrinschwefelsäure oder Müller, Beard Selachierembryonen in Pikrinsäure, Platinchlorid oder Sublimat, Schaffer Ammocoetes in Alkohol.

Als Färbung wird allgemein zur Hervorhebung der Hassall'schen Körperchen Alaunhämatoxylin oder Hämalaun mit Nachfärbung in Eosin oder einem Gemisch von Eosin und Aurantia (Soulié und Verdun) empfohlen. Für Flemming- und Hermannpräparate ist Safranin vorzuziehen. Nussbaum und Machowski erhielten auch mit der Biondifärbung gute Resultate. Speciell zur Darstellung der Hassall'schen Körperchen fixirt Afanassiew Thymus von Kaninchen und Kalb in Ammoniummonochromat, wäscht gut in Wasser aus und überträgt in Alkohol. Rasiermesserschnitte werden dann gut ausgepinselt und zuerst in Alaunhämatoxylin, dann in ammoniakalischem Eosin gefärbt. Zur guten Unterscheidung von Leuko- und Erythrocyten färbt Beard mit Pikrokarmin.

Litteratur: Watney (Phil. Trans., 1882), Prenant (Cellule, Bd. 10, 1894), Sultan (Virchow's Arch., Bd. 144, 1896), Schedel (Arch. mikr. Anat., Bd. 24, 1885), Maurer (Morph. Jahrb., Bd. 13, 1888), Ver Eecke (Bull. Ac. Roy. Méd. Belgique, Ser. 4, Bd. 13, 1899), Soulié u. Verdun (Journ. de l'anat., Jahrg. 33, 1897), Beard (Anat. Anz., Bd. 18, 1900), Schaffer (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 103, 1894), Nussbaum u. Machowski (Anat. Anz., Bd. 21, 1902), Afanassiew (Arch. mikr. Anat., Bd. 14, 1877).

Tolubalsam, Balsamum tolutanum, der Harzsaft einer südamerikanischen Papilionacee, Toluiferum Balsamum. Gelbbraune, dickliche, angenehm

riechende Flüssigkeit, die an der Luft eintrocknet. Brechungsindex 1,640. Leicht löslich in 90%igem Alkohol, Aether, Chloroform. Aceton. Er enthält hauptsächlich ein Harz, dann einen flüchtigen Kohlenwasserstoff (Tolen) und wechselnde Mengen freier Benzoë- und Zimmtsäure.

Wegen seines hohen Brechungsindex hat der Tolubalsam, in Chloroform gelöst, vielfach als Einschlussmedium, besonders für Diatomeen Verwendung gefunden. Carnoy empfiehlt als Deckglaskitt eine Mischung von 2 Theilen Tolubalsam, 1 Theil Kanadabalsam und 2 Theilen koncentrirter Schellacklösung in Chloroform. Das Ganze wird mit Chloroform verdünnt.

Toluidinblau, ein dem Thionin und Methylenblau sehr nahe verwandtes Thiazin, es entsteht wie letzteres aus Thiosulfosäure, nur dass zur Oxydation statt Dimethylanilin Toluidin und Chromat verwandt wird. Kommt als salzsaures Salz in den Handel (Höchst. Ludwigshafen, Berlin). Dunkelgrünes Pulver, das in Wasser mit blauer, in Alkohol mit meergrüner, in Schwefelsäure mit gelbgrüner Farbe löslich ist. Die wässerige Lösung giebt mit Natronlauge einen schmutzigvioletten Niederschlag, mit Salzsäure bleibt sie unverändert.

Das Toluidinblau gleicht in seinen Eigenschaften dem Thionin ausserordentlich. Es ist wie dieses ein sehr guter Kernfarbstoff, der manche Stoffe stark metachromatisch färbt. Die Anwendungsweise ist dieselbe wie dort. Gewöhnlich benutzt man Lösungen von 0,3—1%. Es ist in neuerer Zeit besonders durch die Empfehlung von Lenhossék zur Färbung von Nervenzellen stark in Aufnahme gekommen. Nach Harris (98) soll es sich noch besser als Methylenblau zur vitalen Nervenfärbung eignen. Er benutzt zur Färbung auf dem Objektträger eine Mischung von 2 Theilen 1‰iger Toluidinblaulösung in physiologischer Kochsalzlösung, 1 Theil ¼%iger Ammoniumchloridlösung und 1 Theil Eiweiss. Fixation in Ammoniummolybdat oder koncentrirtem Ferrocyankalium mit etwas Osmiumsäure. Die Gewebe sollen sich blau, die Achsencylinder roth färben. Lenhossék färbt Schnitte des centralen Nervensystems mit koncentrirter wässeriger Toluidinblaulösung, färbt momentan mit Erythrosinlösung nach und differenzirt in Alkohol. Mann verwendet es in ähnlicher Weise mit Eosin zusammen. Prince benutzt zur Blutfärbung eine Mischung von 24 Theilen koncentrirter wässeriger Toluidinblaulösung, 1 Theil koncentrirter wässeriger Säurefuchsinlösung und 2 Theilen 2%iger wässeriger Eosinlösung. Harris (1900) verwendet das Toluidinblau auch zu 1—2% in koncentrirter wässeriger Karbolsäure gelöst, Differenziren in 15fach mit Wasser verdünntem Glycerinäther, oder er verwendet zur Achsencylinderfärbung an Müllermaterial eine 1%ige wässerige Toluidinblaulösung mit 1% Borax und differenzirt in koncentrirter wässeriger Tanninlösung oder Alkohol mit 1% Oxalsäure (1898).

Ueber die Verwendung des Toluidinblaus zur Schleimfärbung vergl. Schleimfärbung, zur Färbung der Nervenfibrillen vergl. Nervenfasern und -zellen, Fibrillen derselben. Vergl. auch Metachromasie.

Litteratur: Lenhossek (Neurol. Centr., Bd. 17, 1898), Mann (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Prince (Microsc. Bull., 1898), Harris (Philadelph. Med. Journ., 1898), derselbe (ebenda, 1900).

Toluol (Methylbenzol), $C_6H_5 . CH_3$, findet sich im Steinkohlentheeröl und entsteht durch trockene Destillation vieler Harze, z. B. des Tolubalsams. Es bildet einen dem Benzol ähnlichen, aber schon dickflüssigeren Kohlenwasserstoff, der bei 110° siedet und bei 15° das spec. Gew. 0,8720, bei 20° 0,8656 hat. Es bleibt im Gegensatz zu Benzol bis zu Temperaturen von — 28° flüssig und wird durch grosse Hitze (Durchleiten durch ein glühendes Rohr) in Naphtalin, Anthracen und andere hochsiedende Kohlenwasserstoffe verwandelt.

Das Toluol des Handels enthält, ähnlich wie Benzol das Thiophen, etwas Thiotolen (α- und β-Methylthiophen), das durch seinen Schwefelgehalt oder an der Violettfärbung mit Phenanthrenchinon und Eisessig erkannt wird.

Neuberg, Berlin.

Toluol ist von HOLL zuerst als Intermedium für Paraffin empfohlen und seit dieser Zeit auch vielfach für diesen Zweck benutzt worden. In Bezug auf seine Lösungsfähigkeit für Paraffin steht es zwischen dem Chloroform und Benzol. Es löst bei 20° ca. 10% Paraffin von 58° Schmelzpunkt.

Traganth, ein Gummi, das aus verschiedenen kleinasiatischen Astragalusarten ausschwitzt, in blätterigen oder hornartigen Stücken in den Handel kommt und 8—10% lösliche (Arabin) und 60—70% quellbare Bestandtheile (Traganthin) enthält. Es wird ähnlich dem arabischen Gummi als Klebe- und Bindemittel benutzt. In der Mikrotechnik dient es wie jenes als Einbettungsmasse, auch zum Aufkleben von Diatomeen ist es in gesättigter Lösung empfohlen worden.

Transparentseife siehe Glycerinseife.

Transpiration der Pflanzen siehe Kobaltprobe.

Traubenzucker siehe Zucker in pflanzlichen Geweben.

Traumaticin, eine Lösung von Guttapercha in Chloroform. Zu ihrer Herstellung übergiesst man 1 Theil gereinigten, getrockneten und zerschnittenen Guttapercha mit 10 Theilen Chloroform, erwärmt so lang auf 30—40°, bis die Lösung erfolgt ist, und kolirt. Man setzt dann noch so viel Chloroform zu, bis die Masse die Konsistenz eines dünnen Syrups hat.

Das Traumaticin ist zuerst von ALTMANN zum Aufkleben von Paraffinschnitten benutzt worden (vergl. pag. 29). Später haben es VOSMAER und PEKELHARING für denselben Zweck wieder empfohlen. Wenn man die Lösung sehr stark mit Chloroform verdünnt, soll sich das feine Guttaperchahäutchen nicht mitfärben.

Litteratur: VOSMAER und PEKELHARING (Verh. kon. Ak. Wet. Amsterdam, Deel 6, 1898).

Trematoden siehe Würmer.

Triacid siehe Blut, auch Biondi-R. Heidenhain'sche Farblösung.

Trichloressigsäure, Acidum trichloraceticum, $CCl_3—CO.OH$, entsteht durch Einwirkung von rauchender Salpetersäure auf Chloralhydrat. Sie bildet farblose, ausserordentlich hygroskopische Krystalle, die in Wasser, Alkohol und Aether sehr leicht löslich sind.

Die Trichloressigsäure ist in 5%iger wässeriger Lösung von PARTSCH als vorzügliches Entkalkungsmittel empfohlen und von uns vielfach als solches erprobt worden. (Näheres siehe pag. 655.)

In neuerer Zeit ist sie auch von HOLMGREN als Fixationsmittel für Nervenzellen in 5%iger wässeriger Lösung empfohlen worden. Dauer der Fixation 8 bis höchstens 24 Stunden, Entwässern in steigendem Alkohol, Paraffineinbettung. Färbung der 2—3 μ dicken Schnitte mit der WEIGERT'schen Elastinfärbung.

Litteratur: HOLMGREN (Anat. Hefte, Bd. 18, 1901).

Trichlormilchsäure, $CCl_3—CH(OH)—CO.OH$, entsteht durch Digestion von Chloralcyanhydrat mit rauchender Salzsäure und bildet farblose Prismen, die in Wasser, Alkohol und Aether leicht löslich sind. Durch ätzende Alkalien wird sie in Chloroform und Ameisensäure zerlegt.

Von HOLMGREN in 5%iger Lösung als Fixationsmittel für spinale Nervenzellen und Pankreas empfohlen. Sie soll das »Trophospongium« noch schöner zeigen als Trichloressigsäure.

Litteratur: HOLMGREN (Anat. Anz., Bd. 20, 1902).

Trockenpräparatfärbung, allgemeine Principien der. Die Untersuchung auf dem Trockenpräparat hat neben der Untersuchung von Schnittpräparaten ihre besondere Existenzberechtigung und beansprucht als solche eingehende Würdigung. In vielen Fällen ist sie eine wichtige Ergänzung der Schnittmethoden, in anderen wenigen Fällen macht sie jener sogar den Rang streitig, insofern, als sie gewöhnlich allein in Anwendung gelangt, während man von der Schnittuntersuchung absieht. Hier ist die eigentliche Domäne des Trockenpräparates. In weitaus den meisten Fällen, wo mikroskopische Untersuchung Platz greift, kann sie ihrer Natur nach indes überhaupt nicht in Anwendung gelangen. Die Schnittmethode ist also die universellere. Sie ist überall verwendbar. Die Trockenmethode pflegt dort in Anwendung zu kommen, wo es sich nicht um geweblich zusammenhängende Gefüge, sondern um isolirte morphotische Elemente handelt, um Suspensionen u. dergl. Hierher gehört in allererster Linie die Untersuchung von Bakterien besonders in Kulturen, ferner die Untersuchung von normalen und pathologischen Gewebs-, Organ- und Parenchymsäften, Klatsch- und Abstrichpräparaten von Schnitt- und Oberflächen, Urinsedimenten, Se- und Exkreten, Eiter und vor allem des Blutes. Mit anderen Worten im Gegensatz zur histologischen Schnittuntersuchung, durch welche in erster Linie die gewebliche Architektur, das Nebeneinander und aus diesem in gewissem Sinne auch das zeitliche Nacheinander eines genetischen Konnexes eruirt wird, ist die Trockenmethode in allererster Hinsicht eine cytologische. Hier, wo die Elemente in natürlicher Form und Grösse erhalten bleiben, unberührt von Schrumpfung etc. erzeugenden Einflüssen, ist vornehmste Gelegenheit geboten, den physiologischen Bau der betreffenden Substrate bis ins Detail hinein zu verfolgen, was im Schnitt, der den verschiedensten fixirenden, wasserentziehenden und sonstigen Einflüssen ausgesetzt gewesen war, kaum jemals in gleicher Weise möglich ist. Dagegen muss man im Trockenpräparat auf die Möglichkeit, genetische Schlüsse zu ziehen, fast völlig Verzicht leisten. Ferner ist ein Schnittpräparat besonders dann lehrreich, wenn die Vorbehandlung eine verschiedene war, wenn mancherlei Fixationsmittel angewandt waren, die einzeln in ganz differenter, mannigfaltiger und specifischer Weise je nach ihren chemischen Affinitäten zum Substrat oder dem osmotischen Aequivalent verschiedene Bestandtheile des Substrats zur Koagulation und Darstellung gelangen lassen, welche Ergebnisse einander so ergänzen, kontrolliren und erst das wahre Wesen des Dargestellten erkennen und begreifen lassen. Im Trockenpräparat fällt diese Möglichkeit fast aus.

Zwar kann man eine Suspension ebenfalls erst fixirenden Flüssigkeiten aussetzen und sie dann zur Antrocknung gelangen lassen. Dies ist eine Untersuchungsmethode für sich, die ihre eigene Besprechung erheischt, wenn schon sie von untergeordneter Bedeutung ist; das Wesen des Trockenpräparates besteht aber gerade darin, dass man erst möglichst ohne Zulassung Schrumpfung erzeugender Einflüsse die Suspension zur Antrocknung bringt und dann das »lufttrockene« Präparat so in seinem natürlichen Gehaben durch Fixation konservirt.

Das Verdienst, die Trockenmethode eingeführt, kultivirt und zu einer wissenschaftlichen Methode allerersten Ranges erhoben zu haben, gebührt in erster Linie unstreitig Ehrlich. Es ist sattsam bekannt und bedarf an dieser Stelle kaum nochmaliger besonderer Würdigung, dass wir die so wichtige und heute besonders werthvolle Unterscheidung der anscheinend so ähnlichen Leukocytenformen einzig und allein den bahnbrechenden Untersuchungen dieses Forschers verdanken, der seine so sinnreich ersonnenen farbenanalytischen Experimente und klassischen Färbungen nirgendwo anders denn am Trockenpräparat anstellte. Hier hat er die Gesetze der differentiellen Kom-

binationsfärbung, der maximalen Differenzirung durch stärkste Extrahentien festgestellt; von ihm rühren die Elementarvorschriften über Dicke und Reinigung der Deckgläschen, Methoden der Herstellung eines Bluttrockenpräparates durch kapillare Ausbreitung und »Abzug« her; EHRLICH ist schliesslich der Verfechter der Vorzüge der Hitzefixation vor der alterirenden chemischen Fixation. In seiner Hand ist die Methode des isolirenden Trockenfärbepräparates derart vervollkommnet worden, dass sie sich heute ebenbürtig dem genialen KOCH'schen Plattenverfahren an die Seite reiht.

Ueber die specielle Technik der Herstellung eines solchen »färbefertigen« Trockenpräparates soll hier nicht gehandelt werden. Das Einschlägige findet man an den bezüglichen besonderen Stellen erörtert. Hier sei nur erwähnt, dass hinsichtlich der Färbung zwischen den beiden Modifikationen eines Trockenpräparates, d. h. einem Deckglas- und einem Objektträgerpräparat ein principieller Unterschied nicht besteht. Das Objektträgerpräparat hat vor dem Deckglaspräparat gewisse praktische Vorzüge; wo es sich um wissenschaftliche Fragen handelt, ist allein das Deckgläschen zulässig. Im übrigen können die äusseren Manipulationen bei der Objektträgerfärbung etwas von der Deckglasfärbung abweichen.

Ein Objektträgerpräparat, das man ja meist in der ärztlichen Sprechstunde zu lediglich gröberen diagnostischen Zwecken durch Bestreichen mit der chargirten Platinöse herstellt, erfordert gemeiniglich grösseren Aufwand von Färbeflüssigkeit, die man rasch in Menge darüber hinlaufen lässt. Will man exakter und gleichmässiger färben, so kann man den chargirten Objektträger wagerecht in eine Petrischale legen und ihn von oben her mit der Farblösung begiessen; hier wird man meist koncentrirtere Anilinfarbstoffe verwerthen.

Sparsamer ist es, wenn man auf folgende Weise verfährt: Man stellt sich von den üblichen Anilinfarblösungen (Karbolfuchsin, Anilingentiana LÖFFLER's Methylenblau, koncentrirte wässerige Bismarckbraunlösung) Konserven in der Weise her, das man Stückchen Fliesspapier in den betreffenden Flotten tränkt und trocknen lässt. Von diesen Konserven, die sich sehr gut zum Mitnehmen auf Reisen eignen, reisst man dann ein Stückchen ab, legt es auf das Präparat und benetzt es mit Wasser. Hierbei verbindet man äusserst geringen Farbverbrauch mit dem Vortheil der gleichzeitigen Filtration.

Bei Hämatoxylin- und Karminfärbung empfiehlt es sich dagegen, längere Zeit progressiv in verdünnten Lösungen zu färben, die man dann zweckmässig in den Brutschrank stellen kann. Hier kann man dann gleich eine grössere Menge von Objektträgern in Trögen unterbringen, indem man sie senkrecht derart hineinstellt, dass man immer am oberen Ende zwischen zwei Objektträger je ein Stückchen eines flachen Zahnstochers legt und dann das Bündel dieser Objektträger oben mit einem kleinen Gummiring (einer Selterwasserflasche) zusammenschliesst. Auf diese Weise kann man je nach der Grösse des Farbtroges bis zu einem Dutzend Objektträger in einem Trog auf einmal färben.* Im allgemeinen ist also das Färbungsverfahren eines Objektträger-Trockenpräparates das gleiche wie das Verfahren bei der Färbung von auf den Objektträger aufgeklebten Paraffinschnitten.

Will man auf einem Deckglaspräparat feinere Kernstudien mittels Hämatoxylinfärbung vornehmen, so empfiehlt es sich, das Deckgläschen mit der chargirten Seite auf der Hämatoxylinlösung im Uhrschälchen schwimmen zu lassen; bei Anilinfärbungen ist es das Einfachste und Praktischste, das Deckgläschen in eine CORNET'sche Pincette zu klemmen und mit einigen Tropfen Farblösung von oben her zu versehen.

* Diese äusserst praktische Methode stammt von Herrn Dr. SIMMONDS, der sie im alten Hamburger Krankenhause in Aufnahme gebracht hat.

Der Zweck der Färbung besteht auch im Deckglaspräparat darin, gewisse morphotische Bestandtheile von daneben liegenden andersartigen Dingen desselben Präparates abzugrenzen und sie so dem Sonderstudium zugänglich zu machen. Diesen Zweck sucht man durch möglichst specifische Färbungen zu erreichen.

Specifisch nennt man eine Färbung, wenn sie eben nur die gewünschten Dinge möglichst ganz allein zur Darstellung bringt.

Dies erreicht man einmal durch singuläre Färbung,

1. wenn man einen Farbstoff verwendet, der einzig und allein gerade nur zu dem gewünschten Substrat derartige chemische Affinität aufweist, dass er nur dieses, nichts sonst weiter tingirt;

2. wenn man einen Farbstoff verwendet, der gerade das gewünschte Substrat besonders intensiv und echt tingirt, so dass das Unerwünschte leicht und vollständig entfärbt werden kann, während das Gewünschte gefärbt restirt.

In beiden Fällen 1 und 2 kann man dann diese anderen ungefärbten Reste nachher (succedan) in einer Kontrastfarbe gegenfärben.

Ferner kann man von dem Elektionsvermögen der Farbstoffe mittels des simultanen polychromatischen Färbeverfahrens Gebrauch machen, indem man ein Gemisch mehrerer Farbstoffe in Anwendung bringt. Dieses Gemisch wird dann durch die verschiedenen Bestandtheile des zu färbenden Präparats derart dissociirt, dass die Substrate von bestimmter Beschaffenheit den einen Farbstoff, die von anderer Beschaffenheit den anderen Farbstoff aufnehmen (Wahlverwandtschaft).

Bei genauer Kenntniss der Natur und Konstitution der in Anwendung gelangten Farbstoffe und aller der das »specifische« Färbungsergebniss beeinflussenden und erzielenden Faktoren und Manipulationen kann man nun weiter aus dem Färbeergebniss neben den morphologischen Studien auch gewisse Schlüsse über die Natur des so abgegrenzten und färberisch isolirten Substrates ziehen, die je nachdem physikalischer oder auch chemischer Natur sein werden. Die tinktoriell zusammengehörig erscheinenden Dinge können dann also je nachdem als von gleicher physikalischer Beschaffenheit angesehen werden, oder auch, im anderen Falle, als chemische Einheit gelten. Bei der Komplicirtheit des Färbeprocesses im allgemeinen und der Mannigfaltigkeit der ihn beeinflussenden integrirenden Faktoren ist die jedesmalige Entscheidung hinsichtlich des Prävalirens chemischer oder physikalischer Färbung keineswegs leicht und muss von Fall zu Fall eine umfassende Erwägung aller Möglichkeiten getroffen werden. Das Farbsalz Methylgrün ist so gebaut, dass es von der schwachsauren Wolle chemisch nicht zersetzt werden kann, was der Fall sein muss, wenn anders Färbung eintreten soll. Erst wenn man der Farblösung Alkali (Borax) zufügt und auf diese Weise arteficiell die Zersetzung vornimmt und das färbende Princip, die Farbbase, in Freiheit setzt, tritt Färbung ein. Die an und für sich stärker saure Seide färbt sich mit Methylgrün indes ohne weiteres.* Wenn nun Methylgrün von histologischen Substraten nichts auf der Welt weiter färbt wie Zellkerne, auch Bakterien nicht, so darf man diese specifische Färbung der Zellkerne doch als eine chemische auffassen, bedingt durch die stark saure Reaktion der Zellkerne.

Anders ist die specifische Kernfärbung des Safranins zu bewerthen. Dieser vorzügliche Kernfarbstoff, der ebenfalls Bacillen schlecht färbt, färbt Zellkerne so intensiv und zähe, dass er durch keinen anderen Farbstoff wie höchstens Methylgrün aus den einmal gefärbten Kernen zu verdrängen ist, andererseits andere Kernfarbstoffe, wie besonders Methylenblau, mit Leichtig-

* In dem einen Fall muss die Gewebssäure stärker sauer sein als die Farbsalzsäure, in dem anderen der Borax alkalischer als die Farbsalzbase.

keit aus den Zellkernen verdrängt und sich selbst an dessen Stelle setzt (Umfärbung).

Thionin färbt Zellkerne besonders physikalisch ungemein echt, insofern als bei Anwendung physikalisch wirkender Extrahentien, wie Glycerin, namentlich aber Alkohol, alles andere exakt entfärbt wird, während nur allein die Zellkerne fast absoluten Widerstand leisten.

Hämatoxylin ist nun insofern ein Kernfärbemittel κατ' ἐξοχήν, als hierbei die feineren morphologischen Kernstrukturen mit einer Prägnanz zum Ausdruck gebracht werden können wie kaum mit irgend einem anderen Färbemittel.

Auch bei der elektiven Doppelfärbung oder differentiellen Kombinationsfärbung ist hinsichtlich der zu ziehenden Schlüsse genau auf die sonstigen Eigenschaften der das Gemisch zusammensetzenden Komponenten zu achten.

Bei Anwendung eines aus einem basischen und einem sauren Farbstoff bestehenden Gemisches färben sich die Zellkerne (Bakterien, Mastzellenkörner, Lymphocytenleiber) in der basischen Komponente; sie sind basophil, haben also wohl chemisch sauren Charakter. Die plasmatischen Bestandtheile, Schimmel, Faden und Sprosspilze, Bindegewebsfasern etc. nehmen den sauren Farbstoff auf, sind also oxyphil; gewisse neutrophile Bestandtheile färben sich in der Mischfarbe, nehmen also zugleich beide Farbstoffe, wohl in einer neutralen Verbindung beider, auf. Es ist also chemische Bindung, resp. chemische Dissociation des gebildeten neutralen Farbstoffes eingetreten.

Bei einem Farbgemisch aus Farbstoffen einheitlichen Charakters kann, wenn die Tinktorialkraft der Komponenten gleich ist oder durch entsprechende Koncentrationsverhältnisse gleich gemacht ist, lediglich nur physikalische Elektion, d. h. elektive Absorption statthaben. Wie ein elektrisches Gitter oder ein Lichtfilter nur die Strahlen adäquater Wellenlänge passiren lässt, die anderen aber absorbirt, oder eine Saite durch Mittönen nur reagirt auf Tonwellen, auf deren Länge sie specifisch abgestimmt ist, so nimmt ein weitporiges (cyanophiles) Substrat aus einem Farbgemisch den dunkeln Farbstoff von grossem Molekularvolumen auf, sich mit ihm färbend, lässt den anderen inadäquaten, relativ unechten aber diffundiren; umgekehrt färbt sich ein dichtes, pyknotisches Substrat eher mit dem helleren Farbstoff, ist also erythrophil oder gar xanthophil.

Es ist klar, dass die Natur des Substrats durch die Vorbehandlung des Präparats beeinflusst wird und man daher, falls man derartige Schlüsse über das natürliche Gehaben, wie angedeutet, neben den morphologischen Studien zu erheben beabsichtigt, alle eingreifenden Vorbehandlungen unterlassen muss. Zum Beispiel werden durch stärkere Erhitzung indulinophile Gewebe eosinophil, eosinophile aurantiophil, normale Kerne pyknotisch. Umgekehrt werden durch Quellung eosinophile Gewebe indulinophil.

Noch mehr kommen derartige Erwägungen in Betracht, wo es sich um mikrochemische Reaktionen handelt. Will man solche vornehmen, darf man das Trockenpräparat nur physikalisch, durch Hitze, Alkohol und dergl. fixiren, muss aber vermeiden, es in chemisch differente Lösungen von Säuren und Salzen, wie Jod, Sublimat, Chromsäure etc. zu bringen, weil dadurch die natürliche chemische Chromatophilie stark alterirt wird.

Im allgemeinen indes spielen in der Mikroskopie derartige mikrophysikalische und mikrochemische Studien eine subordinirte Rolle, und so sind alle möglichen Eingriffe durchaus zulässig, wenn man durch sie »specifische« Färbungen erzielen kann. Durch solche vorbehandelnde Manipulationen physikalischer und chemischer Art wird überhaupt bisweilen erst qualitativ eine Färbung mit bestimmten Farbstoffen möglich gemacht, oder es wird

die Echtheit der Färbung bei einem bestimmten Substrat durch den betreffenden Eingriff quantitativ mehr wie bei einem anderen gesteigert, so dass auf diese Weise die Resistenz gegenüber Differenzirungsmitteln erhöht wird.

Alle diese Massnahmen fallen unter den Begriff der adjektiven Beizenfärbungen. Durch physikalische oder uneigentliche Beizmittel werden die der Färbung förderlichen physikalischen Struktureigenschaften der Substrate aufgeschlossen, verbessert, durch chemische oder eigentliche Beizmittel hingegen die chemischen Faktoren gefördert, fehlende Chromatophilie verliehen, zu geringe Chromatophilie erhöht. Die chemisch aktive Beize fungirt als Amboceptor zwischen den haptophoren Gruppen des Substrates und des Farbstoffes. Erweist sich ein bestimmter Farbstoff für ein bestimmtes Substrat überhaupt essentiell inaffin (inaktiv) oder graduell zu schwach (unecht), so färbt man nicht mehr direkt substantiv, sondern vermittelt die Färbung durch adjektives Beizverfahren, durch Einschiebung einer Beize zwischen Substrat und Farbstoff.

Beizmittel kann man nicht nur vor der Färbung auf das Substrat wirken lassen, sondern sie erst auch während der Färbung zusammen mit der Farbstofflösung in Anwendung gelangen lassen. Zum Beispiel kann man relativ zu weitporigen Substraten durch stärkeres Erhitzen oder Wasserentziehen vor der Färbung eine grössere physikalische Echtheit gegenüber kleinmolekularen hellen Farbstoffen verleihen, oder man kann zu dichte Substrate dadurch für Farblösungen diffusibel machen, dass man der wässerigen Farblösung einen Körper zufügt, zu dem der Farbstoff grösseres Adhäsionsvermögen (Lösungsaffinität) hat als zum Wasser, also z. B. Anilin, Phenol etc.

Besitzt das zu färbende Substrat zu schwach ausgesprochenen chemischen Charakter, um die chemische Spaltung und Dissociation des anzuwendenden Farbsalzes hinreichend ausführen zu können, so fügt man der Farblösung einen chemischen Körper zu, der dieses besorgt, sauren Farbstoffen eine Säure oder saures Salz, basischen Farbstoffen ein Alkali- oder basisches Salz (Lith. carbonic., Sapo venetanus, Borax etc.); man färbt in saurem oder alkalischem Bade (Schwebefällung).

Besitzt das zu färbende Substrat keine oder zu geringe chemische Affinität zur hinreichenden chemischen Bindung eines Farbstoffes, so kommen eigentliche Beizmittel zur Anwendung, namentlich Salze von Schwermetallen, die mit sauren Phenolfarben unlösliche Lacke bilden. Zur Fixation basischer Farbstoffe verwendet man naturgemäss saure Beizen, wie die Gerbsäuren, Jod, Resorcin, Pikrinsäure, Molybdänsäure, Chromsäure oder saure Baumwollfarben. Eine Zufügung zur Farblösung selbst scheint nur beim Alaun gebräuchlich in Form des Alaunkarmin und Alaunhämatoxylin; steht doch das Aluminum gewissermassen zwischen Leicht- und Schwermetallen. Der Alaun aktivirt hierbei das an und für sich für Kerne inaffine Hämatoxylin; es verankert sich das lackartige Alaunhämatoxylin in toto mittelst der haptophoren Gruppen des Alaun; das Hämatoxylin fungirt dabei nur als passives Komplement. Gewöhnlich ist die Beizung aber eine antecedente oder eine nachträgliche.

Hier besteht nun noch ein wichtiger principieller Unterschied zwischen der antecedenten und nachträglichen Beizung. Will man einem von Natur oxyphilen Substrat Chromatophilie zu einem basischen Farbstoff, also Basophilie verleihen, so wendet man vorangehende Beizung mit saurer Beize, also z. B. Gerbung an. Diese stark saure Beize verankert sich mittels eines Theiles ihrer sauren Gruppen einerseits mit den basischen Gruppen des Substrates; der andere Theil bleibt frei zur Verankerung mit den basischen Gruppen des Farbstoffes. War das Substrat primär und nativ

oxyphil, so ist das gebeizte Substrat jetzt basophil. Vorangehende Gerbung verleiht also einem von Natur oxyphilen Substrat Basophilie; mit anderen Worten: durch antecedente Beizung wird Umkehr der Chromatophilie, d. h. Inversion erzielt.

Haftet dagegen ein basischer Farbstoff auf bestimmten Substraten nur zu schwach und oberflächlich, so kann man nachträglich eine saure Beize, etwa Resorcin, Jod etc. nachschicken und die eingetretene Färbung dadurch fixiren. Hier ist durch die nachträgliche Adjektion der Beize der qualitative Effekt der substantiven Färbung nicht alterirt worden. Es ist lediglich quantitativ der Grad der Echtheit gegenüber etwaigen nachfolgenden Differenzirungsmitteln erhöht worden. Ueberhaupt ist es mehr Zweck der eigentlichen Beizen, die Entfärbung zu beschränken, während die uneigentlichen physikalischen Beizen mehr die Färbung selbst fördern. Auf jeden Fall ist ein Beizmittel ein Vermittler zwischen Farbstoff und Substrat, der zu beiden Körpern eine gewisse Affinität haben muss, wie wir es oben auch schon beim Anilin und Phenol kennen gelernt haben. Findet vorherige Beizung statt, so ist klar, dass Beizenfärbung nur dort auftreten kann, wo die Beize am Substrat gehaftet hat und die Beize auch den Farbstoff bindet. Bindet die Beize nur den Farbstoff und haftet an diesem stärker wie am Substrat, so findet keine Lackfärbung statt. Ebenso bei nachträglicher Beizung. Der Lack bleibt nur dort bestehen, wo der Farbstoff auch gewisse starke Affinität zum Substrat hatte, also an den Orten seiner Prädilektion. Wo der Farbstoff schwach gehaftet hatte, wird er, zumal wenn er relativ zu starke Affinität zum nachträglichen Beizmittel offenbart, durch dieses entfernt wie durch ein Differenzirungsmittel, also basische Farbstoffe durch saure Beizen.

Allerdings spielen in der Färbung der Deckglaspräparate die Momente, welche eine Erzielung »specifischer« Färbungen auf Grund besonders echt wirkender Farbstoffe erstreben, eine recht bescheidene Rolle im Gegensatz zu Schnittfärbung. Demnach kommen sowohl eigentliche Beizen wie differentere, chemisch wirkende Differenzirungs- und Extraktionsmittel auf dem Deckglas nur in relativ bescheidenem Masse zur Anwendung.

Wenn man vom Alaunhämatoxylin absieht, einem Färbemittel, dessen Verwendung fast an die substantiven Färbungsmethoden streift*, so findet adjektive Färbung mit echten Beizen auf dem Deckglas in erster Linie statt bei dem Geisselfärbungsverfahren nach Löffler mit Ferrotannat und basischem Fuchsin, welches somit das klassische Vorbild für alle ähnlichen Massnahmen geworden ist. Diese plasmatischen Gebilde des Bakterienleibes, welche an und für sich mit basischen Farbstoffen so gut wie gar nicht darstellbar, mit sauren aber nicht bestimmt genug darstellbar sind, werden mit Tinte gebeizt und dann mit basischem Fuchsin gefärbt.

Weiter kommt hier in Betracht und ist zu nennen das Gram'sche Verfahren, welches auf nachträglicher Beizung basischer Farbstoffe mit dem sauren Metalloid Jod beruht. An gewissen Bakterien, zu denen die betreffenden Farbstoffe solch besondere Affinität beweisen, dass sie durch Jodjodkali nicht gelockert werden, bilden diese Farbstoffe im Verein mit Jodjodkali ein schwer lösliches Jodpigment, welches auch durch stärkere Differenzirungsmittel nur äusserst schwer zu entfernen ist. Bei den Bakterien, die bei Gram entfärbt werden, hat der Farbstoff grössere Affinität zum Jod als zum Bakterium.

Stärkere Differenzirungsmittel (Alkohol, Salpetersäure) werden bei der Deckglasfärbung gemeinhin eigentlich nur bei der Tuberkelbacillen-

* Zur Darstellung des Ektoplasma von Kokken bedient Unna sich des in Acetin gelösten Vesuvintannatlackes, den er als solchen in toto, quasi substantiv verwendet.

färbung und verwandten Methoden (Sporen etc.) verwendet. Hier beruht ja die isolirte Färbung dieser Gebilde gerade auf dem erzielten hohen Echtheitsgrade. Bei dem angewandten starken Extraktionsmittel werden alle anderen gefärbten Gebilde dekolorirt; nur die echt und speciell säureecht gefärbten Gebilde, wie die Tuberkelbacillen, bleiben gefärbt. Das Princip dieser Färbung hat sich auch für Schnittpräparate fruchtbringend erwiesen, wo NICOLLE verschiedenen Bakterien durch Gerbung Säureechtheit verliehen hat. Mastzellenkörner erweisen sich dagegen schon von Natur als säureecht, also Gebilde stärkster Basophilie.

Im übrigen macht man bei Deckglasfärbungen von der natürlichen oder sekundären Echtheit geringeren Gebrauch, um die einzelnen zusammengehörigen Substrate vom heterogenen Gebilde abzugrenzen. Meist färbt man substantiv in einfach wässerigen Lösungen und entfärbt (wäscht aus) entsprechend einfach in Wasser. Das ist eigentlich das generelle Deckglasfärbeverfahren. Will man hier morphologische Individualitäten von einander tinktoriell absondern, so versucht man dies durch singuläre Färbung mit specifisch wirkenden Farbstoffen oder durch simultane Doppeltfärbungen.

Ausser dem Methylgrün giebt es nun leider nicht viel wirklich specifische Farbstoffe im eigentlichen chemischen Sinne, da sonst so ziemlich jeder Farbstoff jedes Substrat, wenn schon verschieden stark und nachhaltig echt färbt. Soweit man demnach nicht mit der verschiedenen Struktur des in Nuance gleich Gefärbten auskommt, kann man allenfalls noch eine verschiedene Intensität der Färbung zu Hilfe ziehen. So färbt z. B. Al.-Hämatoxylin Kokken viel intensiver als Bakterien. Kernbestandtheile dunkler als plasmatische Bestandtheile etc.

Ausser dem Al.-Hämatoxylin kommen vornehmlich basische Anilinfarbstoffe bei singulärer Färbung zur Anwendung, während saure Farbstoffe wohl meist nur zur Gegenfärbung in Kombination mit basischen Farbstoffen dienen. Lediglich bei der Färbung von Faden-, Schimmel- und Sprosspilzen finden die sauren Anilinfarbstoffe singuläre Verwendung.

Die verschiedenen basischen Anilinfarbstoffe färben nun auch, wie erwähnt, in singulärer Anwendung fast alle Substrate, aber in verschiedener Güte. Ihre eigentliche Domäne sind Zellkerne und Bakterien; aber auch hier bestehen specifische Differenzen je nach der Konstitution. Während wir bei den sauren Farbstoffen je nach den haptophoren Gruppen Sulfokörper, Karbonsäuren, Phenole und Nitrofarbstoffe unterscheiden, sind die basischen Farbstoffe sämmtlich Amine (Chinonimide); sie differiren im wesentlichen nach der Natur ihrer Chromophore. Hier unterscheiden wir besonders Rosaniline, Thiazine, Azine, Induline, Acridine und Chinoline, die je nachdem roth, blau oder violett sein können.

Wie bei den sauren Phenolen (Xanthinen, Oxyketonen) und Karbonsäuren die Farbstoffe nur* Derivate des Benzol, Naphtalin oder eines entsprechenden dreigliedrigen Ringes sein können, so auch besagte basische Farbkörper. Je nach dieser besonderen Konstitution wird also ein basischer rother Rosanilinfarbstoff anders und anderes färben als ein basisches rothes Rosindulin.

Wir erwähnten oben, dass z. B. Hämatoxylin besser Kerne als Bakterien färbt. Somit haben wir ein Mittel, diese beiden Dinge, die sich beide basophil verhalten, beide mit basischen Theerfarbstoffen gleich gut färbbar sind, färberisch zu differenziren, indem wir die Zellkerne erst mit Alaunhämatoxylin, die Bakterien dann mit basischen Theerfarbstoffen zur Darstellung bringen.

Safranin ist ein gutes Kernfärbemittel, ein schlechter Bakterienfärber. Färbt man demnach ein Präparat, das beide Bestandtheile enthält (Eiter),

* Auch der fünfeckige Pikrolring kann Farbstoffe bilden (Urobilin), doch spielen diese neben den Benzolfarben weder in der Technologie noch Histologie eine Rolle.

Litteratur: van Gieson (Amer. Month. Micr Journ., Bd. 8, 1887), Bumpus (Amer. Nat., Bd. 26, 1892), Fish (Proc. Amer. Micr. Soc., 1893).

Thymol, Thymiansäure, Thymiankampher, $C_6H_3 \begin{cases} CH_3 \\ C_3H_7 \\ OH \end{cases}$, Methylisopropylphenol, es findet sich im Thymianöl und wird aus demselben durch Behandeln mit Natronlauge und Zerlegen des gebildeten Thymolnatriums mit Salzsäure erhalten. Es bildet farblose, bei 50° schmelzende und bei 100° verdampfende Krystalle von angenehmem Geruch. In Wasser ist das Thymol höchstens zu 0 1%, in Glycerin zu 0,8% löslich. Leicht löslich ist es in Alkohol (aa.), Aether, Oelen und Alkalien. Mit äquivalenten Mengen Chloralhydrat, Phenol oder Kampher zusammengebracht, bildet es ein flüssiges Gemisch. Alkoholische Thymollösungen reagiren neutral.

Das Thymol findet wegen seiner antiseptischen Eigenschaften auch in der Mikrotechnik viefach Anwendung zur Konservirung leicht verderblicher Farbstofflösungen, Injektionsmassen etc. Meist genügt es, in die betreffende Flüssigkeit einige Thymolkrystalle zu werfen oder sie auf die festen Massen zu legen.

Thymus. Zur mikrotechnischen Bearbeitung der Thymus eignen sich die meisten jener Methoden, welche in den Artikeln Lymphatische Organe, Lymphdrüsen und Milz beschrieben worden sind. Speziell für die Thymus sind noch folgende Detailangaben zu erwähnen: Watney hat in seinen berühmten Untersuchungen über den Bau der Thymus hauptsächlich sein Material tagelang mit 0,15—0,25%iger Chromsäure oder wochen- und monatelang mit Kaliumbichromat behandelt. Ausserdem fixirt er wenige Stunden in 0,5%igem Goldchlorid und überträgt dann für 10—15 Tage in gleiche Theile 0,5%iger Osmiumsäure und 0,2%iger Chromsäure oder in Methylalkohol. Färbung in Alaunhämatoxylin oder Brasilholzextrakt mit Alaun. Macerirt wurde die Thymus in 0,1%iger Osmiumsäure oder mehrere Wochen lang in dünner Bichromatlösung mit Eosinzusatz.

Prenant fixirt embryonale Thymus in Flemming, Sultan in Alkohol oder Müller. Schedel fixirt Thymus von Katze, Ziege und Kalb ebenfalls in Flemming. Für Amphibienthymus empfiehlt Maurer Chromessigsäure, Pikrinschwefel- oder Pikrinosmiumsäure, Ver Eecke Hermann'sche Flüssigkeit. Zur Untersuchung der Thymusentwicklung fixiren Soulier und Verdun Embryonen von Kaninchen und Maulwurf in Pikrinschwefelsäure oder Müller, Beard Selachierembryonen in Pikrinsäure, Platinchlorid oder Sublimat, Schaffer Ammocoetes in Alkohol.

Als Färbung wird allgemein zur Hervorhebung der Hassall'schen Körperchen Alaunhämatoxylin oder Hämalaun mit Nachfärbung in Eosin oder einem Gemisch von Eosin und Aurantia (Soulié und Verdun) empfohlen. Für Flemming- und Hermannpräparate ist Safranin vorzuziehen. Nussbaum und Machowski erhielten auch mit der Biondifärbung gute Resultate. Speciell zur Darstellung der Hassall'schen Körperchen fixirt Afanassiew Thymus von Kaninchen und Kalb in Ammoniummonochromat, wäscht gut in Wasser aus und überträgt in Alkohol. Rasiermesserschnitte werden dann gut ausgepinselt und zuerst in Alaunhämatoxylin, dann in ammoniakalischem Eosin gefärbt. Zur guten Unterscheidung von Leuko- und Erythrocyten färbt Beard mit Pikrokarmin.

Litteratur: Watney (Phil. Trans., 1882), Prenant (Cellule, Bd. 10, 1894), Sultan (Virchow's Arch., Bd. 144, 1896), Schedel (Arch. mikr. Anat., Bd. 24, 1885), Maurer (Morph. Jahrb., Bd. 13, 1888), Ver Eecke (Bull. Ac. Roy. Méd. Belgique, Ser. 4, Bd. 13, 1899), Soulié u. Verdun (Journ. de l'anat., Jahrg. 33, 1897), Beard (Anat. Anz., Bd. 18, 1900), Schaffer (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 103, 1894), Nussbaum u. Machowski (Anat. Anz., Bd. 21, 1902), Afanassiew (Arch. mikr. Anat., Bd. 14, 1877).

Tolubalsam, Balsamum tolutanum, der Harzsaft einer südamerikanischen Papilionacee, Toluiferum Balsamum. Gelbbraune, dickliche, angenehm

riechende Flüssigkeit, die an der Luft eintrocknet. Brechungsindex 1,640. Leicht löslich in 90⁰/₀igem Alkohol, Aether, Chloroform, Aceton. Er enthält hauptsächlich ein Harz, dann einen flüchtigen Kohlenwasserstoff (Tolen) und wechselnde Mengen freier Benzoë- und Zimmtsäure.

Wegen seines hohen Brechungsindex hat der Tolubalsam, in Chloroform gelöst, vielfach als Einschlussmedium, besonders für Diatomeen Verwendung gefunden. CARNOY empfiehlt als Deckglaskitt eine Mischung von 2 Theilen Tolubalsam, 1 Theil Kanadabalsam und 2 Theilen koncentrirter Schellacklösung in Chloroform. Das Ganze wird mit Chloroform verdünnt.

Toluidinblau, ein dem Thionin und Methylenblau sehr nahe verwandtes Thiazin, es entsteht wie letzteres aus Thiosulfosäure, nur dass zur Oxydation statt Dimethylanilin Toluidin und Chromat verwandt wird. Kommt als salzsaures Salz in den Handel (Höchst, Ludwigshafen, Berlin). Dunkelgrünes Pulver, das in Wasser mit blauer, in Alkohol mit meergrüner, in Schwefelsäure mit gelbgrüner Farbe löslich ist. Die wässerige Lösung giebt mit Natronlauge einen schmutzigvioletten Niederschlag, mit Salzsäure bleibt sie unverändert.

Das Toluidinblau gleicht in seinen Eigenschaften dem Thionin ausserordentlich. Es ist wie dieses ein sehr guter Kernfarbstoff, der manche Stoffe stark metachromatisch färbt. Die Anwendungsweise ist dieselbe wie dort. Gewöhnlich benutzt man Lösungen von 0,3—1⁰/₀. Es ist in neuerer Zeit besonders durch die Empfehlung von LENHOSSÉK zur Färbung von Nervenzellen stark in Aufnahme gekommen. Nach HARRIS (98) soll es sich noch besser als Methylenblau zur vitalen Nervenfärbung eignen. Er benutzt zur Färbung auf dem Objektträger eine Mischung von 2 Theilen 1⁰/₀₀iger Toluidinblaulösung in physiologischer Kochsalzlösung, 1 Theil $^1/_4$⁰/₀iger Ammoniumchloridlösung und 1 Theil Eiweiss. Fixation in Ammoniummolybdat oder koncentrirtem Ferrocyankalium mit etwas Osmiumsäure. Die Gewebe sollen sich blau, die Achsencylinder roth färben. LENHOSSÉK färbt Schnitte des centralen Nervensystems mit koncentrirter wässeriger Toluidinblaulösung, färbt momentan mit Erythrosinlösung nach und differenzirt in Alkohol. MANN verwendet es in ähnlicher Weise mit Eosin zusammen. PRINCE benutzt zur Blutfärbung eine Mischung von 24 Theilen koncentrirter wässeriger Toluidinblaulösung, 1 Theil koncentrirter wässeriger Säurefuchsinlösung und 2 Theilen 2⁰/₀iger wässeriger Eosinlösung. HARRIS (1900) verwendet das Toluidinblau auch zu 1—2⁰/₀ in koncentrirter wässeriger Karbolsäure gelöst, Differenziren in 15fach mit Wasser verdünntem Glycerinäther, oder er verwendet zur Achsencylinderfärbung an Müllermaterial eine 1⁰/₀ige wässerige Toluidinblaulösung mit 1⁰/₀ Borax und differenzirt in koncentrirter wässeriger Tanninlösung oder Alkohol mit 1⁰/₀ Oxalsäure (1898).

Ueber die Verwendung des Toluidinblaus zur Schleimfärbung vergl. Schleimfärbung, zur Färbung der Nervenfibrillen vergl. Nervenfasern und -zellen, Fibrillen derselben. Vergl. auch Metachromasie.

Litteratur: LENHOSSEK (Neurol. Centr., Bd. 17, 1898), MANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), PRINCE (Microsc. Bull., 1898), HARRIS (Philadelph. Med. Journ., 1898), derselbe (ebenda, 1900).

Toluol (Methylbenzol), $C_6H_5 . CH_3$, findet sich im Steinkohlentheeröl und entsteht durch trockene Destillation vieler Harze, z. B. des Tolubalsams. Es bildet einen dem Benzol ähnlichen, aber schon dickflüssigeren Kohlenwasserstoff, der bei 110⁰ siedet und bei 15⁰ das spec. Gew. 0,8720, bei 20⁰ 0,8656 hat. Es bleibt im Gegensatz zu Benzol bis zu Temperaturen von — 28⁰ flüssig und wird durch grosse Hitze (Durchleiten durch ein glühendes Rohr) in Naphtalin, Anthracen und andere hochsiedende Kohlenwasserstoffe verwandelt.

Von grösster Bedeutung in der Mikroskopie haben sich die polychromatischen Simultanfärbungen erwiesen, d. h. die auf physikalischer oder chemischer Elektion (s. o.) beruhenden differentiellen Kombinationsfärbungen, welche auf der Verwendung von Farbgemischen beruhen.

Hier müssen wir einmal jene Farbgemische besonders betrachten, deren eine Komponente specifische Eigenschaften hat, und deren Princip somit bereits oben besprochen ist. Hier gehören z. B. alle jene Färbungen hin, die Methylgrün enthalten, sei es in Kombination mit sauren Farbstoffen (Triacid: Methylgrün, S-Fuchsin, Orange G) oder in Kombination mit basischen (Pyronin).

Auch hier färbt es nämlich ausschliesslich Zellkerne und hebt diese als solche hervor; alles übrige färbbare Material, sei es oxyphil oder selbst basophil, überlässt es den anderen Komponenten des Gemisches; so werden im Triacid die basophilen Lymphocytenleiber mit saurem Fuchsin-S rosa tingirt, im Methylgrün-Pyroningemisch die Lymphocytenleiber und Kokken roth, die Mastzellenkörner gelb etc. etc. Aehnlich verhalten sich die Gemische, die Alaunhämatoxylin enthalten (Hämatoxylin, Eosin etc.).

Soweit Farbstoffe von nicht so ausgesprochener Specificität in Betracht kommen, haben wir oben schon erörtert, welche Schlüsse aus solchen Färbungen zu ziehen sind. Wir sahen, dass Gemische aus Farbstoffen eines Charakters Schlüsse auf die physikalische Beschaffenheit des Substrats (elektive Absorption) zulassen, neutrale Gemische indes Schlüsse auf den Chemismus.

Wendet man Gemische homogener Natur an, so erweist sich weitporiges Material als cyanophil, engporiges als erythrophil und xanthophil. Solche Gemische sind besonders das von Ehrlich angegebene Triglyceringemisch, das aus drei sauren Farbstoffen besteht, dem blauen Indulin, einem Sulfofarbstoff, dem rothen Eosin, einer Oxykarbonsäure, und dem gelben Aurantia, einem Nitrofarbstoff.

Will man basische Farbstoffe mit einander kombiniren, so gelingt das am besten mittels Chromgrün, Fuchsin und Vesuvin.

Von neutralen Gemischen muss man unterscheiden solche, deren saure Komponenten Karbonsäuren sind, von solchen, die Sulfosäuren enthalten; Nitrokörper kommen nicht in Betracht, da mit ihnen basische Farbstoffe unlösliche und undissoziirbare, lackähnliche Salze bilden.

Von Karbonsäuren kommt besonders in Betracht das Eosin, das mit basischen Farbsalzen wahrscheinlich bibasische Verbindungen bildet, wobei 1 Mol. Eosin 2 Mol. Farbbase bindet. Man kombinirt es gewöhnlich mit Methylenblau, kann aber auch violette Farbstoffe verschiedenster Gruppen verwenden. Sehr geeignet erwies sich mir die Verbindung mit Toluidinblau, welches sowohl vor dem Methylenblau wie vor den violetten Basen Vorzüge besitzt, beziehungsweise die Vorzüge beider in sich vereinigt. Mit den violetten Farbstoffen theilt es die metachromatische Eigenschaft, mit dem Methylenblau den Umstand, dass die blaue Nuance sich von der rothen mehr abhebt als bei den violetten Farbstoffen.

Bei Kombination mit Sulfofarbstoffen darf man nur als basische Komponenten Farbammoniake verwenden, deren Zahl eine beschränkte ist. Hier kommt es nämlich zur Bildung einer leicht zersetzlichen triaciden Verbindung des basischen Farbsalzes, wobei 1 Mol. desselben 3 Mol. Farbsäure bindet. Die rothen Farbstoffe treten bekanntlich vor den blauen und violetten Kernfarben zurück, sind also von untergeordneter Bedeutung. In Betracht kommen nur Pyronin, allenfalls Rhodamin. Von violetten Farbstoffen gehören hierher Hexamethylviolett, ferner besonders Amethystviolett, die beide metachromatisch sind. Methylgrün, ebenfalls ein Farbammoniak, bildet nur specifische Färbungen (Triacid); am geeignetsten ist auch hier Methylenblau,

welches allerdings nicht metachromatisch ist, wie die violetten Farbstoffe, aber distinktere Färbungen leistet. Toluidinblau ist kein Ammoniak. Von sauren Farbstoffen sind allein geeignet stark diffundirende helle (rothe und gelbe) Polysulfosäuren geringerer Tinktorialkraft, also Lichtgrün, S-Rubin, Orange. Man kombinirt am besten die violetten Farbstoffe mit Lichtgrün oder Orange, die blauen mit S-Fuchsin.

Während man bei Kombination mit Karbonsäuren dem basischen Methylenblau nur ein wenig Eosin zusetzt, den sich bildenden Niederschlag neutralen Farbsalzes mithin in einem Ueberschuss des basischen Farbstoffes auflöst, erweist es sich hier bei Sulfosäuren als nöthig, den neutralen Farbstoff in einem Ueberschuss des sauren Farbstoffes aufzulösen. Man fügt der Methylenblaulösung soviel S-Fuchsin hinzu, bis ein Niederschlag entsteht, und fügt weiter soviel zu, bis dieser sich eben wieder auflöst.

Man kann nun schliesslich die Differenzirung so weit treiben, dass man physikalische und chemische Elektion in einem Gemisch kombinirt.

Zum Beispiel kann man zu einem Gemisch von Methylenblau und Vesuvin, also von zwei basischen Farbstoffen, auch saures Eosin hinzufügen; hierbei bindet 1 Mol. Eosin je 1 Mol. Methylenblau und Vesuvin.

Oder man kann die zwei basischen Farbstoffe Methylenblau und Pyronin derartig mit dem Sulfofarbstoff Orange G kombiniren, dass ein Farbgemisch aus zwei neutralen Farbstoffen Methylenblau-Orange + Pyronin-Orange entsteht.

Schliesslich kann man einen basischen Farbstoff, etwa Methylenblau, mit zwei sauren Sulfofarbstoffen, Orange G und S-Fuchsin, derartig kombiniren, dass eine triacide Verbindung des Methylenblau entsteht, welches je nachdem 1 Mol. Orange und 2 Mol. S-Fuchsin oder 2 Mol. Orange und 1 Mol. S-Fuchsin gebunden enthält.

Es ist klar, dass auf diese Weise die weitgehendsten panoptischen Differenzirungen erzielt werden können. Pappenheim's Pantriacid (2 Vorschr.) enthält Methylenblau, Methylenazur, Eosin und Tartrazin.

Zum Schlusse sei noch erwähnt, dass Hämatoxylin eine Kombination nur mit sauren Farbstoffen verträgt, nicht aber mit natürlichen (Alaunkarmin) oder künstlichen basischen Kernfarbstoffen, die keine Differenzirungen ergeben, sondern sich nur dem Alaunhämatoxylin addiren.

Man setze nun ein Deckglastrockenpräparat zur Erforschung seiner physikalischen und chemischen Verhältnisse folgenden Färbungen aus, die sich als besonders geeignet erwiesen haben:

1. Ehrlich's Glyceringemisch, enthaltend 3 saure Farbstoffe: Indulin-Eosin-Aurantia;

2. drei basische Farbstoffe: Malachitgrün + Fuchsin + Chrysoidin (Phosphin), respektive Methylgrün + Pyronin + Vesuvin;

3. neutrophile Gemische wie: Indazinblau + S Fuchsin, Safranin + Lichtgrün, Auramin + Wasserblau;

3*a*. Triacid aus 2 basischen Farbstoffen: Methylgrün + Pyronin + Orange;

3*b*. Triacid aus 2 sauren Farbstoffen: Methylgrün + S Fuchsin + Orange;

4. Pappenheim's Pantriacid (1. Vorschrift): Methylenblau + S Fuchsin + Orange.

Alle diese Färbungen ergänzen einander. Hierzu treten weiter die zwei wichtigsten klassischen Färbungen:

5. Methylenblau, Eosin successiv und simultan (Plehn, Czenczinsky, Willebrand, Ehrlich, Michaelis, Leiskmen);

6. Al-Hämatoxylin, Eosin,

zu denen auch neuerdings

5*a*. Methylenblau, Methylenazur, Eosin (Romanowsky, Ziemann, Nocht, Reuter, Michaelis, Giemsa) hinzugetreten ist.

Mit diesen beiden, respektive drei Färbungen kann man gewöhnlich völlig auskommen. Man kann sie aber noch panoptischer machen, indem man die Vorzüge der Färbungen sub 1—4 ihnen verleiht. Man färbe alsdann mit:

7. Hämatoxylin — Glyceringemisch;

8. PAPPENHEIM's Pantriacid (2. Vorschrift): Methylenblau, Methylenazur, Eosin, Orange (Tartrazin);

9. Hämatoxylin — Pantriacid, 1. Vorschrift;

9*a*. Hämatoxylin — Pantriacid, 2. Vorschrift. *Pappenheim*, Hamburg.

Tropaeolin O, Syn. für Chrysoin (CASELLA).

NIKIFOROFF benutzt zur Färbung der Rekurrensspirillen eine Mischung von 10 Theilen koncentrirter wässeriger Methylenblaulösung, 5 Theilen 1%iger alkoholischer Tropaeolinlösung und 2 Tropfen 1‰iger Kalilauge.

Tropaeolin OO, Syn. für Orange IV (CASELLA).

Tropaeolin OOO, Nr. 1 und Nr. 2, Syn. für Orange I, resp. II.

Von MÖRNER und WOLTERS zur Färbung des Knorpels benutzt. (Näheres siehe Knorpel.)

Trypsin siehe Verdauung als histologische Methode, siehe auch Enzyme.

Tuberkelbacillen. I. Allgemeine Eigenschaften der Tuberkelbacillen. Die Tuberkelbacillen, die Erreger der Tuberkulose, sind überaus feine Stäbchen von 1,6—3,5 μ Länge. Sie sind selten ganz gerade gestreckt, meist zeigen sie leichte Knickungen oder Biegungen. Oft erscheinen die Bacillen, wenigstens in gefärbten Präparaten, gegliedert, aus einzelnen Körnchen zusammengesetzt, so dass rosenkranzartige Formen entstehen. Im frischen tuberkulösen Gewebe liegen sie meist einzeln oder zu zweien — dann gewöhnlich unter spitzem Winkel gekreuzt oder parallel dicht neben einander — beisammen, im zellenarmen, in Verkäsung begriffenen Gewebe dagegen findet man sie oft in grossen Mengen zusammenliegend, so dass solche Stellen durch die besondere Färbung der Tuberkelbacillen oft schon mit schwacher Vergrösserung kenntlich sind.

Eigenbeweglichkeit besitzt der Tuberkelbacillus nicht. Die Kultivirung gelingt am besten auf Blutserum oder Glycerinagar (Agar mit 6% Glycerinzusatz): Hierbei bilden sich nach 2—3 Wochen grauweisse trockene Schuppen. Das Temperaturoptimum für das Wachsthum der Bacillen liegt zwischen 37° und 38° C.; bei einer Temperatur unter 30° und über 42° wächst der Bacillus nicht.

Die Kulturen müssen, wenn sie virulent bleiben sollen, sorgfältig vor Licht geschützt werden; diffuses Tageslicht tödtet, wie KOCH[25]) gezeigt hat, Kulturen, die dicht am Fenster aufgestellt sind, in 5—7 Tagen ab, direktes Sonnenlicht erheblich schneller, nämlich in einigen Stunden, oft sogar schon in wenigen Minuten.

II. Tinktorielle Eigenschaften der Tuberkelbacillensäurefestigkeit.

In ihrem färberischen Verhalten, das im Folgenden näher besprochen werden soll, unterscheiden sich die Tuberkelbacillen, die überhaupt grosse Resistenz gegen äussere Einflüsse zeigen, insofern von allen anderen Bakterienarten, als sie die Tinktion durch die üblichen basischen Anilinfarbstoffe schwer annehmen, wenn sie aber einmal gefärbt sind, den Farbstoff wiederum bedeutend fester zurückhalten, d. h. sich dann auch den Entfärbungsmitteln, Alkohol und Säure, gegenüber schwerer zugänglich zeigen als alles übrige im Präparat Befindliche, auch als alle anderen Bakterien, eine Thatsache, die zuerst von EHRLICH[10]) festgestellt worden ist.

Man muss deshalb, um in einem Präparat etwa vorhandene Tuberkelbacillen sicher zur Darstellung zu bringen, den betreffenden Farbstoff besonders intensiv einwirken lassen.

Dieses ganz eigenartige Verhalten der Tuberkelbacillen erfordert zwar einerseits eine etwas umständliche Färbeprocedur, giebt aber auf der anderen Seite dem Forscher wie dem Arzte fast ausnahmslos die Möglichkeit, im einzelnen Fall mit Sicherheit zu entscheiden, ob er Tuberkelbacillen vor sich hat oder nicht.

Die eigenthümlichen tinktoriellen Eigenschaften der Tuberkelbacillen und insbesondere ihre Säurefestigkeit führen neuere Autoren, Klebs[22]), Unna[41]), Koch[26]), auf einen beträchtlichen Fettgehalt der Bacillenleiber zurück. Zuerst stellte Hammerschlag[18]) fest, dass der Tuberkelbacillus im Gegensatz zu anderen Bakterienarten einen hohen Procentsatz durch Aether und Alkohol extrahirbarer Substanzen enthält. Sodann berechneten de Schweidnitz und Dorset[38]), dass die Trockensubstanz des Tuberkelbacillus zu 37% aus Fett, und zwar hauptsächlich Palmitinsäureglycerid bestehe. Unna hat übrigens durch Behandlung von Tuberkelbacillenkulturen mit Osmiumsäure den grossen Fettgehalt der Bacillen makroskopisch kenntlich gemacht. Koch wies zwei ungesättigte Fettsäuren in dem Tuberkelbacillus nach; die eine ist in verdünntem Alkohol löslich und leicht durch Natronlauge verseifbar, die andere dagegen löst sich nur in siedendem absoluten Alkohol oder Aether und ist sehr schwer verseifbar. Beide nehmen zwar die specifische Tuberkelbacillenfärbung an; da aber durch die Behandlung mit Säure und Alkohol die erste Fettsäure gelöst wird, so bleibt nur die zweite, in kaltem Alkohol unlösliche zurück, und diese ist der eigentliche Träger der Tuberkelbacillenfärbung.

In neuester Zeit ist von Klein[23]) und etwas später von Marmorek[30]) der interessante Nachweis geführt worden, dass ganz jung gewachsene Tuberkelbacillen nicht säure- und alkoholfest sind; Marmorek erklärt diese Thatsache dadurch, dass der junge Tuberkelbacillus noch nicht mit jener Fett- und Wachshülle umgeben sei, welche einerseits es den gewöhnlichen basischen Farbstoffen unmöglich mache, mit dem Protoplasma des Tuberkelbacillus in Berührung zu kommen, und andererseits die Säure und den Alkohol daran hindern, den einmal eingedrungenen Farbstoff wieder zu entziehen. Die Wahrscheinlichkeit, dass Tuberkelbacillen in ihren ersten Jugendformen durch Säuren leicht entfärbt werden, und dass so die jüngsten Bacillen unserer Beobachtung entgehen, hatte schon lange vorher Ehrlich[48]) betont.

Ferner ist es Borrel gelungen, den Tuberkelbacillen künstlich die Säure- und Alkoholfestigkeit zu nehmen: durch längeres Einwirken von warmem Xylol konnte den Tuberkelbacillen eine wachsartige Masse entzogen werden, welche säure- und alkoholfest war, während die behandelten Tuberkelbacillen diese Eigenschaft eingebüsst hatten, wohl aber noch die Fähigkeit besassen, Tuberkel zu erzeugen. Schon vorher hatte Koch darauf hingewiesen, dass man durch Extraktionsmittel die Tuberkelbacillen ihrer specifischen Färbbarkeit berauben kann.

III. Die verschiedenen Farbgemische für Tuberkelbacillen.

Die ursprüngliche Färbemethode, die Koch[24]) zuerst anwandte, als es ihm im Beginn seiner Forschung darauf ankam, in Schnitten von jungen grauen Lungentuberkeln frisch getödteter Thiere etwaige konstant vorkommende Bakterien nachzuweisen, war die folgende: Der Schnitt oder das Trockenpräparat kam auf 24 Stunden bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, resp. auf $\frac{1}{2}$—1 Stunde bei 40° C in ein Gemisch von 200 Ccm. Aq. dest.,

1 Ccm. gesättigter alkolischer Methylenblaulösung, 0,2 Ccm. 10%iger Kalilauge.

Das auf diese Weise dunkelblau gefärbte Präparat wurde zunächst in Wasser abgespült und gelangte für eine Viertelstunde in eine gesättigte wässerige Lösung von Vesuvin (Bismarckbraun); nach abermaligem Abspülen in Wasser wurde es sodann in absoluten Alkohol überführt, um schliesslich nach der Aufhellung in Balsam eingeschlossen zu werden. Auf diese Weise konstatirte KOCH zuerst in solchen Schnitten das regelmässige Vorkommen von feinen stäbchenartigen Gebilden — den Tuberkelbacillen —, die blau geblieben waren, während die übrigen Bakterien und die Gewebskerne die braune Farbe angenommen hatten.

Es muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass ganz kurze Zeit nach der ersten KOCH'schen Veröffentlichung BAUMGARTEN[4]) unabhängig von KOCH im tuberkulösen Gewebe mittels Aufhellung der Präparate durch sehr verdünnte Kali- oder Natronlauge Bacillen nachwies, die sich als identisch mit den KOCH'schen herausstellten.

Noch im selben Jahre (1882) publicirte EHRLICH[10]) die Herstellungsweise seiner Anilinwasser-Farbstofflösungen, die, ursprünglich für die Färbung der Tuberkelbacillen konstruirt, seitdem für die Bakterienfärbung überhaupt eine fundamentale Bedeutung gewonnen haben. EHRLICH erkannte nämlich, dass das Färbungsvermögen und die Färbungsintensität der wässerig-alkoholischen Lösungen durch den Zusatz von Anilinwasser erheblich gesteigert werden kann. Wie EHRLICH annimmt[48]), »inkrustirt sich die Bacillenhülle allmählich mit den Stoffwechselprodukten des Bacillus, die ihre Durchgängigkeit immer mehr und mehr herabsetzen.... Das Anilin spielt eine doppelte Funktion, indem es einerseits die Bacillenhülle durchgängiger macht, andererseits sich mit dem Pigment zu der für die Brillanz der Färbung nöthigen Doppelverbindung paart.« Die damals von EHRLICH angegebene und seither noch immer zur Tuberkelbacillenfärbung vielfach angewendete Lösung, die eine Mischung einer gesättigten wässerigen Anilinlösung und einer gesättigten alkoholischen Farblösung darstellt, wird auf folgende Weise bereitet: Man schüttelt 4 Ccm. Anilin (Anilinöl) mit 100 Ccm. destillirtem Wasser etwa 5 Minuten lang stark, filtrirt dann die Flüssigkeit durch ein mit destillirtem Wasser vollständig angefeuchtetes Filter und setzt zu dem Filtrat, das ganz klar sein muss und Anilinwasser genannt wird, nach WEIGERT[44]) am besten 11 Ccm. einer gesättigten alkoholischen Fuchsinlösung, schüttelt die Mischung einigemale und lässt sie dann einige Stunden ruhig stehen, damit sich die Farbstoffniederschläge zu Boden setzen. Schon nach 6—10 Stunden hat sich die Lösung so weit geklärt, dass sie benutzt werden kann; man entnimmt dann mit einer Pipette jedesmal aus den oberen Schichten der Flüssigkeit soviel Farblösung als für das betreffende Präparat nöthig ist und lässt die Flasche selbst, in der die Lösung enthalten ist, nach Möglichkeit ruhig stehen, um nicht die abgesetzten Farbstoffniederschläge wieder aufzuwirbeln. Die EHRLICH'sche Lösung giebt die schönsten farbenkräftigsten Bilder, wenn sie gleich in den ersten Tagen nach ihrer Herstellung verwandt wird, und der Verfasser, der selbst Jahre hindurch mit derselben gearbeitet hat, möchte diesen Zeitpunkt als den geeignetsten für all die Fälle empfehlen, in denen es darauf ankommt, ganz vereinzelte Tuberkelbacillen in einem Präparat mit Sicherheit zu färben.

Für weniger difficile Zwecke kann man die Lösung auch ganz gut noch 8—10 Tage nach ihrer Herstellung verwenden; später aber wird sie allmählich missfarbig und ist nicht mehr zu gebrauchen. Präparate, die mit dem oben angegebenen Fuchsin-Anilinwassergemisch gefärbt sind, werden nachher am besten mit einer Methylenblaulösung gegengefärbt, wie weiter unten noch genauer geschildert werden soll. Statt der Fuchsinlösung kann

man aber auch genau dieselbe Menge von gesättigter alkoholischer Gentianaviolett- oder Methylviolettlösung zu dem Anilinwasser zusetzen, nur wird man dann als Kontrastfarbe keine blaue, sondern eine braune Färbung, am besten Bismarckbraun wählen.

Bald nach Publikation der EHRLICH'schen Methode kam eine neue Lösung zur Färbung von Tuberkelbacillen, die sogenannte ZIEHL'sche Lösung, in Gebrauch. Sie wird in der Weise dargestellt, dass man 10 Ccm. einer gesättigten alkoholischen Fuchsinlösung mit 100 Ccm. einer 5%igen wässerigen Karbolsäurelösung vermischt. Nach GÜNTHER[17]), der übrigens betont, dass man zur Herstellung dieser Karbolsäurelösung destillirtes Wasser verwenden muss, trägt die ZIEHL'sche Lösung ihren Namen insofern mit Unrecht, als ZIEHL[46]) ursprünglich eine Mischung einer 2%igen alkoholischen Methylviolettlösung mit Karbolsäurelösung angegeben hat und erst NEELSEN[33]) 1885 statt der Methylviolettlösung die Fuchsinlösung einführte.

Das Karbolfuchsin, das heute in Deutschland bei den Praktikern fast ausschliesslich für die Tuberkelbacillenfärbung verwandt wird, hat allerdings vor der EHRLICH'schen Lösung den einen Vorzug, dass es dauernd haltbar und infolgedessen jederzeit gebrauchsfertig käuflich zu beziehen ist. Es steht aber die Karbolfuchsinlösung, wie der Verfasser wiederholt feststellte, einmal an Intensität und Sicherheit der Färbung hinter der EHRLICH'schen Lösung zurück; ausserdem hat sie, wie GÜNTHER hervorhebt, die unangenehme Eigenthümlichkeit, die Präparate mit grösseren oder kleineren rundlichen Farbstoffflecken zu bedecken, die sich durch das nachfolgende Abspülen in Wasser schwer oder gar nicht entfernen lassen.

Diese beiden Farblösungen, die EHRLICH'sche und die ZIEHL-NEELSEN'sche, werden heutzutage für die Tuberkelbacillenfärbung ausschliesslich angewandt.

Der Tuberkelbacillus ist auch nach der GRAM'schen Methode färbbar, doch müssen nach dem oben Auseinandergesetzten die Präparate länger und intensiver mit der Farblösung behandelt werden, als dies bei anderen leichter färbbaren Bakterien erforderlich ist.

Der Vollständigkeit wegen sei noch erwähnt, dass UNNA[43]) eine Methode angegeben hat, Tuberkelbacillen im Gewebe mit Jod braun zu färben, die aber für den Praktiker wenig in Betracht kommt.

IV. Die Tuberkelbacillenfärbung in Organschnitten.

Nachdem wir im Vorstehenden die allgemeinen Grundprincipien der Tuberkelbacillenfärbung sowie die wichtigsten Farblösungen, die für ihre Tinktion Verwendung finden, kennen gelernt haben, soll nunmehr geschildert werden, wie im einzelnen Fall der Nachweis der Tuberkelbacillen, d. h. die Vorbehandlung, Färbung, Entfärbung und Nachfärbung der Präparate am besten geschieht.

Wenn es nur darauf ankommt, in einem frisch vom Lebenden oder von der Leiche entnommenen Organstückchen etwa vorhandene Tuberkelbacillen möglichst schnell nachzuweisen, ohne dass irgendwelche feinere histologische Detail- oder gar Serienschnittuntersuchung nothwendig ist, so kann man mit dem Gefriermikrotom frische Schnitte anfertigen und diese (ähnlich wie Celloidinschnitte) folgendermassen weiterbehandeln: Die Schnitte kommen für 24 Stunden bei Zimmertemperatur oder für 2 Stunden bei Brutschranktemperatur in die EHRLICH'sche Anilinwasserfuchsinlösung, werden dann, nachdem sie in Wasser abgespült, für einige Sekunden in 3%igen Salzsäurealkohol gelegt, wiederum in Wasser oder dünnem (55%igem) Alkohol abgespült und in verdünnter Methylenblaulösung nachgefärbt, bis sie einen dunkelblauen Farbton angenommen haben; nach abermaligem Ab-

spülen in Wasser oder dünnem Alkohol (je nachdem die Methylenblaulösung eine wässerige oder schwach alkoholische war) werden sie in absolutem Alkohol entwässert und, nachdem sie in Xylol aufgehellt sind, in Kanadabalsam eingeschlossen.

GÜNTHER sagt, dass in Schnitten, die auf diese Weise behandelt sind, namentlich wenn statt der Salzsäure eine 25%ige wässerige Salpetersäurelösung als Entfärbungsmittel verwandt war, die Tuberkelbacillenfärbung oft nicht haltbar ist und in kürzerer oder längerer Zeit, in »Stunden, Tagen bis Wochen« wieder verschwindet.* Um in solchen Schnitten eine dauernd haltbare Tuberkelbacillenfärbung zu erzielen, kann man sich nach GÜNTHER's [16, 17]) Rath zweckmässig der UNNA'schen [42]) Antrockungsmethode bedienen. Die in der EHRLICH'schen Flüssigkeit 24 Stunden bei Zimmertemperatur oder 2 Stunden im Brutschrank gefärbten Schnitte kommen für etwa 10 Minuten in Wasser zur vorläufigen Entfernung überflüssigen Farbstoffes, sodann entweder auf 2 Minuten in 20%ige wässerige Salpetersäurelösung, auf 1/2 Minute in absoluten Alkohol und sodann in mehrmals erneutes Wasser oder auf 2 Minuten in 3%igen Salzsäurealkohol und darauf in öfter zu wechselndes Wasser. Nunmehr werden die Schnitte zugleich mit einer kleinen Quantität Wasser mit einem Spatel auf den Objektträger übertragen, und dieser, nachdem das Wasser sorgfältig mit Fliesspapier abgetupft ist, so lange erhitzt, bis der Schnitt leicht glänzend wird. Durch dieses starke Erhitzen werden die letzten Spuren von Säure aus dem Schnitte entfernt. Nachdem der Objektträger abgekühlt ist, wird der Schnitt in Xylolbalsam eingeschlossen. In solchen Präparaten ist dann die Tuberkelbacillenfärbung dauernd haltbar, da, wie UNNA nachgewiesen, das allmähliche Verschwinden der Tuberkelbacillenfärbung durch die sonst möglicherweise im Schnitt zurückgebliebenen Spuren der Entfärbungssäure hervorgerufen wird. Wie leicht ersichtlich, wird aber durch die starke Erhitzung des trockenen Schnittes die Gewebsstruktur derartig zerstört, dass die UNNA-sche Methode. sobald man mit der Aufsuchung von Tuberkelbacillen auch irgendwelche histologische Untersuchung des Präparates verbinden will, nicht zu verwenden ist, und dass es aus diesem Grunde auch wenig Zweck hat, eine Nachfärbung der doch schon zerstörten Gewebskerne anzuschliessen.

In allen Fällen, in denen es neben der Tuberkelbacillendarstellung auch auf Untersuchung der feineren pathologisch-anatomischen Details auf dünnen Schnitten ankommt, oder in denen gar die Anfertigung und Färbung von Serienschnitten nothwendig ist, kommt man natürlich mit der bisher beschriebenen Technik nicht aus, sondern man muss dann das Material, das in Schnitte zerlegt werden soll, fixiren und einbetten.

Die Fixirung geschieht nach der recht ausgedehnten Erfahrung des Verfassers am besten in absolutem Alkohol. Man wirft zwar dem Alkohol absolutus als Fixationsmittel meistens vor, dass er einerseits, indem er dem Gewebe zu plötzlich Wasser entziehe und eine rapide Koagulation der Eiweissstoffe bewirke, oft eine starke Schrumpfung und Entstellung der Zellen hervorrufe, andererseits, dass er überhaupt nur kleinere, höchstens 5 Mm. im Durchmesser betragende Objekte fixiren könne und bei grösseren die centralen Schichten unfixirt lasse, weil er infolge der eintretenden Eiweisskoagulation nur in die peripheren eindringen könne. Der Verfasser hat im Laufe der letzten Jahre tausende von Objekten, die weit mehr als 5 Mm., oft 2—3 Cm. im Durchmesser betrugen, zum Zwecke der Darstellung von Tuberkelbacillen in absolutem Alkohol fixirt und ausnahmslos eine schöne

* Der Verfasser kann zu dieser Frage hier keine Stellung nehmen, da er nie einzelne Schnitte in dieser Weise behandelt hat; er wird seine Methode, die ihm stets gute Resultate und eine noch nach 4 und 5 Jahren tadellos erhaltene Tuberkelbacillenfärbung geliefert hat, weiter unten eingehend beschreiben.

gleichmässige Schnittkonsistenz, tadellose Tuberkelbacillenfärbung und gute histologische Strukturbilder erhalten.

Vor einiger Zeit wurden von italienischen Autoren, d'Arrigo und Stampacchia [2]), zwei Fixirungsmittel speciell für Organstücke, in denen Tuberkelbacillen gefärbt werden sollen, angegeben; die eine dieser Mischungen besteht aus 95%igem Alkohol 100 Ccm., Pyrogallussäure 2 Grm. Diese Lösung muss unmittelbar vor dem Gebrauche hergestellt werden, damit der Alkohol nicht Zeit hat, sich zu schwärzen. Vorher müssen die Stücke in Wasser gut abgewaschen und dann mit Fliesspapier abgetrocknet werden, da sowohl durch Blut als durch Wasser die Lösung sehr schnell schwarz wird. In dieser nach zwei Tagen zu erneuernden Flüssigkeit bleiben die Stücke 4 Tage, sodann kommen sie so lange in alle paar Tage zu wechselnden 95%igen Alkohol, bis derselbe sich nicht schwärzt, schliesslich in absoluten Alkohol, Chloroform, Paraffin. Die andere von den genannten Autoren angegebene Fixationsflüssigkeit, die die Gewebe gut konserviren und die Färbung der Tuberkelbacillen erleichtern soll, aber nur für kleine Stücke verwendbar ist, ist die von Hayem zur Fixirung des Blutes empfohlene Mischung: Schwefelsaures Natron 2,50 Grm., Chlornatrium 0,50 Grm., Sublimat 0,25 Grm., Aq. dest. 100 Grm.

In dieser Flüssigkeit bleiben die Stücke 24 Stunden bei 37° C. (im Thermostaten), werden einige Stunden gründlich in fliessendem Wasser gewaschen, kommen in gewöhnlichen Alkohol, dem etwas Jodtinktur zugesetzt ist, und schliesslich in absoluten Alkohol, Chloroform, Paraffin.

Der Verfasser erwähnt diese beiden Fixirungsflüssigkeiten der Vollständigkeit wegen, ohne sie selbst nachgeprüft zu haben. Schliesslich kann ja keine Methode besser als gut sein, und der absolute Alkohol ist ein einfaches und bei richtiger Anwendung, wie gesagt, ausgezeichnetes Fixationsmittel.

Ich lege die Objekte sofort nach der Entnahme aus dem Körper in den absoluten Alkohol, erneuere denselben dann zunächst nach drei Stunden, sodann am zweiten Tag und endlich noch einmal am dritten Tag. Nur wenn die Stücke ganz besonders gross sind, oder wenn sehr viele Stücke in ein kleineres Gefäss kommen mussten, lasse ich dieselben noch einen Tag länger im abermals erneuerten absoluten Alkohol. Andernfalls giesse ich am dritten Tag vorsichtig etwas Alkohol ab und dafür allmählich, alle halbe Stunde, tropfenweise etwas Chloroform hinzu, so dass schliesslich die Stücke bis zum nächsten Tage in einer Mischung bleiben, die etwa zur Hälfte aus absolutem Alkohol und zur anderen Hälfte aus Chloroform besteht. Sind nach 24 Stunden die anfangs schwimmenden Stücke alle zu Boden gesunken, so wird nunmehr die ganze Flüssigkeit abgegossen und durch reines Chloroform ersetzt. In diesem bleiben die Präparate je nach der Grösse 24 bis 48 Stunden (im letzteren Falle ist das Chloroform nach 24 Stunden zu wechseln); sodann wird der gesammte Inhalt des Gefässes in eine Schale mit geschmolzenem weichen Paraffin (Schmelzpunkt 42°) gegossen, so dass sich nun die Präparate in einem Gemisch von Chloroform und weichem Paraffin befinden. Während der nächsten Stunden entweicht nun das Chloroform allmählich, und nach 20—24 Stunden werden die Präparate mit angewärmter Pincette in eine Schale mit geschmolzenem harten Paraffin (Schmelzpunkt 58°) übertragen. In diesem bleiben sie je nach ihrer Grösse 3—6 Stunden, um dann schliesslich darin eingebettet zu werden.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich betonen, dass ich von den beiden allgemein gebräuchlichen Einbettungsmethoden, der Celloidin- und der Paraffinmethode, für unsere Zwecke nur die letztere für empfehlenswerth halte; die Celloidineinbettung ist umständlicher, langwieriger, unzuverlässiger, und man erhält bei ihrer Anwendung nicht so dünne Schnitte und so feine

histologische Strukturbilder wie mit der Paraffinmethode. Bei den pathologischen Anatomen hat freilich, insbesondere auch für tuberkulöse Organe, die Celloidineinbettung eine gewisse Souveränität erlangt, ohne dass indessen ein Grund dafür einzusehen wäre; denn der Vorwurf, den man der Paraffinmethode in dieser Beziehung macht, dass sich die Tuberkelbacillenfärbung in solchen Präparaten nicht lange halte und nach einiger Zeit verschwände, ist sicher — eine gute Technik vorausgesetzt — unbegründet.

Die 5—10—15 μ dünnen Paraffinschnitte werden auf einen mit einem feinen hauchartigen Ueberzug von Eiweissglycerin bestrichenen und mit einer Schicht destillirten Wassers bedeckten Objektträger übertragen. Dieser kommt, nachdem die Schnitte sich geglättet haben und man das überschüssige Wasser hat abfliessen lassen, für mindestens 48 Stunden, besser aber noch einige Tage länger in den Brutschrank. Erst nachdem die Objektträger ganz trocken geworden sind — keinesfalls vor zwei Tagen —, werden sie zunächst in Xylol, welches das Paraffin löst, dann in absoluten Alkohol und in Wasser übertragen. In jeder dieser Flüssigkeiten lasse ich die Objektträger 1—2 Minuten und tropfe nunmehr, nachdem von der Unterseite das Wasser vollständig entfernt ist, mit einer Pipette soviel von dem EHRLICH'schen Anilinwasserfuchsin auf, dass alle auf dem Objektträger befindlichen Schnitte vollständig von der Farblösung bedeckt sind. Sodann ziehe ich den Objektträger 2—3mal vorsichtig langsam durch die Flamme, bis die Fuchsinlösung so erwärmt ist, dass ein leichter Dampf aufsteigt, giesse dann die Farbflüssigkeit von dem Objektträger ab, warte 1—2 Minuten, bis derselbe erkaltet ist, spüle ihn in Wasser ab und tropfe, abermals mit einer Pipette, auf den Schnitt Salzsäurealkohol (100 Ccm. 70%igen Alkohols, 3 Ccm. Salzsäure), indem ich durch leichtes Hin- und Herneigen des Objektträgers dafür sorge, dass der Salzsäurealkohol mit allen Theilen des Präparates in gleichmässige Berührung kommt. Sind die Schnitte, nachdem der Salzsäurealkohol etwa 1 Minute eingewirkt hat, noch nicht vollständig entfärbt, so giesse ich denselben ab, spüle das Präparat nochmals in Wasser ab und behandle es abermals mit dem Salzsäurealkohol: es tritt dann gewöhnlich sofort eine vollständige Entfärbung ein. Eine Ausnahme machen natürlich Schnitte, die so dicht gelagerte Massen von Tuberkelbacillen enthalten, dass diese schon mit blossem Auge als rothgefärbte Flecken erscheinen, die natürlich durch den Salzsäurealkohol nicht verschwinden. Die entfärbten Schnitte werden, nachdem sie gründlich in Wasser abgespült sind, einige Minuten in einer filtrirten alkalischen Methylenblaulösung nachgefärbt; sie werden in dieser leicht überfärbt und nehmen eine dunkelblaue Farbe an; wenn sie dann aber in Wasser abgespült und zur Entwässerung in den absoluten Alkohol übertragen sind, so geht in diesem immer ein Theil des Methylenblau wieder heraus, so dass die Schnitte nun einen schönen himmelblauen Farbenton bekommen. Nachdem sie dann in Xylol aufgehellt sind, werden sie in Kanadabalsam eingeschlossen. Man erzielt, wenn man die eben angegebenen Vorschriften genau befolgt, eine sichere, schnelle, haltbare Tuberkelbacillendarstellung mit guter Kontrastfärbung. Die Methode erfordert freilich einige Uebung, insbesondere sind plötzliche Temperaturübergänge, die immer eine Schädigung der Gewebsstruktur hervorrufen, sowie vor allem ein Verbrennen der Präparate beim Erhitzen der Fuchsinlösung zu vermeiden. Aber dass diese Gefahren mit Sicherheit zu vermeiden sind, beweist die Erfahrung des Verfassers[12, 13]), der viele tausend Serienschnitte von überdies ziemlich difficilem Material (Säugethieruterus mit ganz jungen Fruchtblasen im Innern, Placenten, embryonale Gewebe und Organe, Haut, Auge, grosse hyperplastische Tonsillen u. s. w.) in der oben beschriebenen Weise mit durchaus zufriedenstellendem Erfolge behandelt hat.

V. Der Tuberkelbacillennachweis in flüssigen Medien (Sputum, Urin u. s. w.).

Soll ein Sputum auf Tuberkelbacillen untersucht werden, so giesst man dasselbe zweckmässig auf einen schwarzen Teller und entnimmt mit der Spitze des eben ausgeglühten und wieder erkalteten Platindrahtes aus einer rein eiterigen Partie ein Theilchen, am besten, wenn irgend vorhanden, ein kleines käsiges Bröckchen, streicht das Material in möglichst dünner Schicht auf einem rein geputzten Deckglase aus und lässt es bei gewöhnlicher Temperatur an der Luft antrocknen. Ist das Präparat lufttrocken, so erfasst man das Deckglas mit der CORNET'schen Pincette und zieht es, um es zu fixiren, 2—3mal durch die Flamme, tropft dann, soviel als nöthig ist, um das Deckglas ganz zu bedecken, von der EHRLICH'schen Flüssigkeit herauf und erwärmt dieselbe, indem man das Deckglas mit der Pincette vorsichtig über die Flamme hält, zweimal, bis Dampf aufsteigt, respektive bis sich eben Bläschen auf der Flüssigkeit zu bilden beginnen, lässt dann wieder erkalten, spült in Wasser ab, entfärbt in salzsaurem Alkohol, spült abermals sorgfältig in Wasser ab, färbt in Methylenblau 1—2 Minuten nach, spült auch jetzt wieder ab und kann nun, wie GÜNTHER[17]) räth, nach dem Trocknen noch mehrmals durch die Flamme ziehen, um durch Verjagung der letzten Säurereste die Tuberkelbacillenfärbung dauernd haltbar zu machen. Schliesslich kann das Präparat in Kanadabalsam eingeschlossen werden.

Gerade für Ausstrichpräparate wird statt der Anilinwasserfuchsinlösung von den Praktikern fast ausschliesslich das Karbolfuchsingemisch benutzt.

Ebenfalls für praktische Zwecke findet zur schnelleren Färbung von Ausstrichpräparaten die von B. FRÄNKEL[11]) empfohlene Methode jetzt vielfach Anwendung. Sie beruht darauf, dass bei dem Ausstrichpräparat die Entfärbung und Kontrastfärbung in einer Procedur vereinigt wird. Das mit dem Fuchsingemisch gefärbte Präparat wird, nachdem es erkaltet und in Wasser abgespült ist, mit einer schwefelsauren, respektive salpetersauren Methylenblaulösung nachbehandelt, und zwar besteht die Lösung entweder aus 50 Aq. dest., 30 Alkohol, 20 Acid. nitric., Methylenblaulösung bis zur Sättigung — oder aus Aq. dest. 100,0, Acid. sulfur. 25,0, Methylenblau 2,0.

In einer dieser Lösungen (häufiger ist die letztere in Gebrauch) bleibt das Präparat 3—5 Minuten, wird dann in Wasser abgespült und getrocknet; es muss jetzt blau erscheinen und darf keine grösseren rothen Flecke mehr zeigen, sonst muss es nochmals 1—2 Minuten mit der Lösung behandelt werden. Ist das Präparat, nachdem es in Wasser abgespült war, wieder trocken geworden und einigemale durch die Flamme gezogen, so wird es in Kanadabalsam eingeschlossen.

Vor etwa 10 Jahren wurde von CZAPLEWSKI[9]) eine Modifikation der Tuberkelbacillendarstellung speciell für Deckglaspräparate vorgeschlagen, die sich aber nicht eingebürgert hat. CZAPLEWSKI rieth nämlich, da er meinte, dass durch die starke Mineralsäure (Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure) ein Theil der Tuberkelbacillen wieder entfärbt werde und so dem Untersucher entgehen könne, statt der Säure Fluorescin anzuwenden; nach der Färbung in der Karbolfuchsinlösung soll man zunächst die überschüssige Farblösung abtropfen lassen, das Deckglas dann 6—10mal in eine koncentrirte alkoholische Lösung von gelbem Fluoresceïn, die Methylenblau im Ueberschuss enthält, eintauchen und schliesslich noch einmal in koncentrirter alkoholischer Methylenblaulösung nachfärben; nachdem man die Präparate schnell in Wasser abgespült und wieder getrocknet hat, schliesst man sie in Kanadabalsam ein.

Sind in einem Sputum nur vereinzelte Tuberkelbacillen vorhanden oder stösst der Nachweis der Bacillen auf Schwierigkeiten, so kann man sich mit Vortheil des BIEDERT'schen[6]) Sedimentirungsverfahrens bedienen; man kocht 15 Ccm. Sputum mit 2 Esslöffeln Wasser und 4—8 Tropfen Kali- oder Natronlauge 2 Stunden lang unter fortwährendem Umrühren auf dem Sandbade und setzt allmählich noch einige Esslöffel Wasser hinzu, bis der grösste Theil des Eiters aufgelöst und eine homogene Flüssigkeit entstanden ist. In dem zurückbleibenden Sediment, dessen Bildung und Vervollständigung man durch Centrifugiren beschleunigen kann, sammeln sich dann die specifisch schwereren Tuberkelbacillen an und sind, selbst wenn sie nur spärlich vorhanden sind, in demselben mit Sicherheit nachzuweisen.

Ein anderes Sedimentirungsverfahren wurde von STROSCHEIN[40]) angegeben: 5 Ccm. Sputum werden mit der doppelten Menge einer im Verhältniss von 1 : 3 stehenden Mischung von Borax-Borsäurelösung und Wasser eine Minute lang energisch geschüttelt. Nach 24—48 Stunden hat sich die Flüssigkeit abgesetzt und man kann in dem Sediment eventuell vorhandene Tuberkelbacillen nachweisen.

VAN KETEL[20]) schüttelt 100 Ccm. Wasser, 6 Ccm. verflüssigte Karbolsäure und 15 Ccm. Auswurf eine Minute lang stark, lässt dann die Mischung 24 Stunden lang in einem Spitzglas absetzen und untersucht das Sediment auf Tuberkelbacillen.

Bei der SPENGLER'schen[39]) Methode, die auf einem ähnlichen Princip beruht, versetzt man das zunächst alkalisch gemachte Sputum mit Pankreatin und überlässt es dann 24 Stunden bei Bruttemperatur der Verdauung; die Zellkerne und alle Bakterien, also auch die Tuberkelbacillen, sind dann noch unverdaut im Sediment enthalten und leicht nachzuweisen. Auch D'ARRIGO und STAMPACCHIA[2]) haben eine ähnliche Methode angegeben, um wenige in einem Sputum vorhandene Tuberkelbacillen, die durch grosse Schleimmassen verdeckt und der Färbungsflüssigkeit nicht zugänglich sind, leicht zur Auffindung zu bringen: in ein reines Reagensröhrchen werden 4—5 Sputumballen gebracht und das Gläschen bis reichlich zur Hälfte mit RANVIER'schem Drittelalkohol angefüllt; sodann wird das Röhrchen, das mehrmals umzuschütteln ist, mit einem Wattepfropf verschlossen und 24 Stunden lang im Brutschrank bei 37° oder 3 Stunden lang bei 50° C gehalten. Der Drittel alkohol zerstört den Schleim und fixirt die Zellen und Bacillen, welche auf den Boden des Röhrchens sinken. In einem so behandelten Auswurf kann man nach Angabe der genannten Autoren noch nach Jahren die Tuberkelbacillen färben; ein einziges gut angefertigtes Präparat soll zu der Entscheidung genügen, ob in dem betreffenden Sputum Tuberkelbacillen vorhanden sind oder nicht (? der Verfasser).

Der Vollständigkeit wegen erwähnen wir noch eine Methode der mikroskopischen Sputumuntersuchung von AD. SCHMIDT[37]), der das Sputum wie ein Organstück behandelt, es in Alkohol härtet, in Schnitte zerlegt und diese färbt. Diese Methode ist von GABRITSCHEWSKY[14]) speciell für den Nachweis von Tuberkelbacillen empfohlen worden.

KOCH[24]) hatte anfangs geglaubt, dass die Tuberkelbacillen sowohl in der künstlichen Kultur wie im Thierkörper Sporen bilden, und zwar meinte er, die in gefärbten Präparaten in den Tuberkelbacillen so häufig aufzufindenden ungefärbten Lücken (die der Gliederung des Bacillus entsprechen) als Sporen ansprechen zu dürfen. Indessen dürfte einerseits der Umstand, dass es bisher nicht gelungen ist, diese Lücken irgendwie zu färben, andererseits die von KITASATO[21]) festgestellte Thatsache, dass die oft in phthisischem Sputum vorhandenen, derartige Lücken aufweisenden Tuberkelbacillen gewöhnlich zum grössten Theile abgestorbene Gebilde sind, gegen die Deutung dieser Lücken als Sporen sprechen.

Ebenso wie im Sputum lassen sich natürlich auch im Darminhalt, im abgestrichenen Gewebssaft tuberkulös erkrankter Organe, im Wundsekret tuberkulöser Wunden u. s. w. Tuberkelbacillen durch die oben angegebenen Färbungsmethoden nachweisen.

Im Urin sind Tuberkelbacillen bei Tuberkulose des Harnapparates meist nur spärlich vorhanden. Man muss daher centrifugiren oder den Harn 24 Stunden lang in einem Spitzglase vollständig sedimentiren lassen und dann eine grössere Zahl von Deckglastrockenpräparaten, am besten mit dem Ehrlich'schen Anilinwasserfuchsingemisch färben und in der oben für die Sputumpräparate angegebenen Weise weiter behandeln.

In ähnlicher Weise wird man die bei tuberkulöser Meningitis durch die Quincke'sche Lumbalpunktion zu diagnostischen Zwecken entnommene Spinalflüssigkeit auf Tuberkelbacillen zu untersuchen haben.

Sollen in zellreichen, durch Punktion entleerten Pleura- oder Peritonealexsudaten oder im Knocheneiter zur Sicherung der Diagnose »tuberkulöse Pleuritis«, »tuberkulöse Peritonitis«, »tuberkulöse Osteomyelitis« Tuberkelbacillen durch Färbung nachgewiesen werden, so wird man das Exsudat, resp. den Eiter zweckmässiger Weise zunächst nach der Biedert-schen Sedimentirmethode behandeln und dann das Sediment auf Tuberkelbacillen färben.

Im Blut sind Tuberkelbacillen, wenn überhaupt nachweisbar — wie bei akuter Miliartuberkulose — nur in so geringer Zahl vorhanden, dass man hier mit der mikroskopischen Untersuchung nicht auskommt, sondern den Thierversuch zu Hilfe nehmen muss.

VI. Tuberkelbacillen-ähnliche Bacillen.

Zum Schlusse muss noch erwähnt werden, dass eine Reihe von anderen Bacillen ein ähnliches tinktorielles Verhalten zeigt als der Tuberkelbacillus.

So steht demselben in dieser Beziehung zunächst der Bacillus der Hühnertuberkulose ziemlich nahe. Freilich nimmt, wie der Verfasser erst kürzlich an Ausstrichpräparaten einer Reinkultur feststellte, der Hühnertuberkelbacillus den Farbstoff beträchtlich leichter an als der Bacillus der Säugethiertuberkulose und zeigt auch nicht denselben Grad von Säurefestigkeit wie dieser. Hühnertuberkelbacillen werden nämlich durch das Ehrlich'sche Anilinwasserfuchsingemisch schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur in $1/4$ Minute gefärbt und verlieren durch 3%igen salzsauren Alkohol sofort wieder alle Farbe; auch wenn man die Ehrlich'sche Flüssigkeit in der oben beschriebenen Weise in der Hitze hat einwirken lassen, so werden durch kurze Behandlung mit salzsaurem Alkohol fast alle Bacillen sofort wieder vollständig entfärbt, nur vereinzelte Gruppen von Bacillen behalten im Ausstrichpräparat der Reinkultur eine schwache Färbung. Man wird mit Hilfe dieses verschiedenen tinktoriellen Verhaltens in zweifelhaften Fällen immer in der Lage sein, den Bacillus der Hühnertuberkulose von dem der Säugethiertuberkulose zu unterscheiden, und eine Verwechslung wird praktisch umso weniger vorkommen können, als die Hühner gegen Säugethiertuberkelbacillen und umgekehrt fast alle Säugethiere gegen Hühnertuberkulose fast vollständig refraktär sind.

Auch der Leprabacillus steht in seinem färberischen Verhalten dem Tuberkelbacillus nahe; doch lässt auch er sich leichter färben und zeigt nicht denselben Grad von Säurefestigkeit, verhält sich also ganz ähnlich wie der Hühnertuberkelbacillus. Baumgarten[5]) betrachtet das verschiedene Verhalten des Tuberkelbacillus und des Leprabacillus bei der Behandlung mit einfachen wässerigen Fuchsinlösungen als ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal beider Bacillen: während sich auf diese Weise die Tuberkelbacillen

noch nicht färben, nehmen die Leprabacillen schon bei Zimmertemperatur in kurzer Zeit den Farbstoff an. NEISSER[34]) giebt die WEIGERT'sche Kernfärbung als die Differentialfärbung des Leprabacillus gegenüber dem Tuberkelbacillus an. UNNA[41]) stellte fest, dass auch die Leprabacillen, ebenso wie wir dies oben bei den Tuberkelbacillen hervorhoben, Fett enthalten und glaubte auch, die freilich im Vergleiche zum Tuberkelbacillus bedeutend geringere Säurefestigkeit des Leprabacillus auf diesen Fettgehalt beziehen zu müssen. Der Verfasser hat wiederholt lepröses Material, insbesondere lepröse Hoden, die in der oben für die Tuberkelbacillendarstellung angegebenen Weise fixirt und eingebettet waren, bearbeitet und sich überzeugt, dass man mit dieser Methode auch eine ausgezeichnete haltbare Färbung der Leprabacillen erzielt, nur muss man die Entfärbung im salzsauren Alkohol abkürzen, d. h. diesen nur etwa die Hälfte der oben angegebenen Zeit einwirken lassen und hierauf wiederholt in Wasser abspülen, damit alle Säure herausgeht. Man erhält so die farbenprächtigsten Bilder und findet auf jedem Schnitt Hunderttausende in Haufen beieinander liegender, leuchtend roth gefärbter Leprabacillen. Auch der Leprabacillus lässt sich übrigens ebenso wie der Tuberkelbacillus nach der GRAM'schen Methode darstellen, und UNNA ist es gelungen, auch ihn, ebenso wie den Tuberkelbacillus, mit Jod braun zu färben.

Die vor einigen Jahren von BABES[3]) und CZAPLEWSKI[8]) beschriebenen, aus den Organen Leprakranker gezüchteter Bakterien unterscheiden sich von dem echten Leprabacillus, mit dem sie wahrscheinlich nicht identisch sind, durch ihre mangelhafte Säureresistenz und zeigen Aehnlichkeit mit den Diphtheriebacillen.

Einen dem Tuberkelbacillus in der Form ähnlichen und auch nach ähnlichem Princip darstellbaren Bacillus hatte LUSTGARTEN[29]) in syphilitischen Geweben und Sekreten gefunden. Die in dem EHRLICH'schen Anilinwassergentianaviolett gefärbten, in Alkohol ausgewaschenen und dann in Kaliumpermanganat entfärbten Präparate zeigen nur noch jene Bacillen gefärbt. Dieser Bacillus fand sich indessen nicht als konstanter Befund in syphilitischen Geweben und ist auch bisher noch nicht gezüchtet worden. Immerhin ist es vielleicht mehr als ein blosser Zufall, dass die beiden Hauptformen der infektiösen Granulationsgeschwülste, Tuberkulose und Lepra, die ja in ihrem Verlaufe sowie pathologisch-anatomisch soviel Aehnlichkeit zeigen, durch Erreger hervorgerufen werden, die sich morphologisch und tinktoriell so ausserordentlich nahe stehen; insofern ist es ein bemerkenswerthes Zusammentreffen, dass auch der bei der dritten in diese Gruppe gehörigen Granulationsgeschwulst, der Syphilis, wiederholt aufgefundene Bacillus auch seinerseits wiederum in Form und färberischem Verhalten an den Bacillus der Tuberkulose und den der Lepra erinnert.

Auch die Smegmabacillen, von ALVAREZ und TAVEL[1]) bei gesunden Menschen im Smegma praeputiale, zwischen den grossen und kleinen Labien, am Anus sowie in der Schenkelbeuge und zwischen den Zehen aufgefundene und dann von MATTERSTOCK[31]) bestätigte kurze Stäbchenformen, verhalten sich tinktoriell den Tuberkelbacillen ähnlich und dürften — namentlich wo ein Verdacht auf Urogenitaltuberkulose vorliegt — bisweilen mit diesen verwechselt werden. Es ist daher zweckmässig, die äusseren Genitalien vor der Entnahme des Urins sorgfältig zu reinigen oder denselben durch sterilen Katheter zu entnehmen. Uebrigens geht aus den Untersuchungen von GRETHE[15]), BUNGE und TRAUTENROTH[7]) und HONSELL[19]) hervor, dass die Alkohol- und Säurefestigkeit der Smegmabacillen doch meistens geringer als die der Tuberkelbacillen ist: so sollen die gefärbten Smegmabacillen durch salzsauren Alkohol in 3 Minuten, durch absoluten Alkohol meist

schon in 1 Minute wieder entfärbt werden, während Tuberkelbacillen zu dieser Zeit stets noch die Farbe bewahren.

Vor einigen Jahren fand PAPPENHEIM[35]) in einem gangränösen Lungenabscess ziemlich säurefeste Bacillen, die intra vitam auch im Sputum vorhanden gewesen waren und die er ihrem tinktoriellen Verhalten nach für »Smegmabacillen oder eine diesen äusserst nahe verwandte Varietät« hält.

PETRI[36]) isolirte einen ziemlich säure- und alkoholfesten Bacillus aus der Butter, der aber bedeutend kürzer und dicker als der Tuberkelbacillus ist und daher mit diesem kaum verwechselt werden kann. Auch tinktoriell verhält sich der Butterbacillus im Ausstrichpräparat der Reinkultur lange nicht so säurefest wie der Tuberkelbacillus.

Ein weiterer ziemlich säurefester, mit dem eben erwähnten nicht identischer Bacillus wurde von KORN[27]) in der Butter gefunden.

Ferner fand MOELLER[32]) auf mehreren als Viehfutter benutzten Gräsern zwei Formen von schlanken, mikroskopisch vom Tuberkelbacillus angeblich oft kaum unterscheidbaren Stäbchen (von ihm Timotheebacillus und Grasbacillus II genannt), die sich »bei den gebräuchlichen Färbungsmethoden« wie der Tuberkelbacillus verhalten sollen.

Endlich ist noch zu erwähnen, dass schon 1884 von ZAHN[45]) und neuerdings wieder von LICHTENSTEIN[47]) im Sputum und dann von LAABS[28]) im Mundspeichel sowie im Zungen- und Zahnbelag bei nicht tuberkulösen Individuen säurefeste, den Tuberkelbacillen sehr ähnliche Bacillen gefunden wurden.

Es scheint also auch bei Sputumuntersuchungen Vorsicht geboten, wenn auf den Bacillenbefund allein hin die Diagnose: Tuberkulose aufgebaut werden soll, und es dürfte hin und wieder ein zweifelhafter Fall vorkommen, in dem der tinktorielle Nachweis säurefester Bacillen nicht genügt und in dem man dann den Thierversuch nicht entbehren kann.

Litteratur: [1]) ALVAREZ und TAVEL (Arch. physiol. 1885), [2]) D'ARRIGO und STAMPACCHIA (Centr. Bakt., Bd. 23, 1898), [3]) BABES (Arch. méd. expérim. 1897), [4]) BAUMGARTEN (Centr. med. Wiss., 1882), [5]) BAUMGARTEN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), [6]) BIEDER (Berl. klin. Woch., 1886), [7]) BUNGE und TRAUTENROTH (Fort. Med., 1896), [8]) CZAPLEWSKI (Centr. Bakt., Bd. 23), [9]) derselbe (Die Unters. d. Answ. auf Tuberkelbac., Jena 1891, Gust. Fischer und Mitth. aus Dr. Brehmer's Heilanst. Wiesbaden, 1890, pag. 155), [10]) EHRLICH (Deutsch. med. Woch., 1882), [11]) B. FRÄNKEL (Berl. klin. Woch., 1884), [12]) F. F. FRIEDMANN (Beitr. path. Anat., Bd. 28, 1900), [13]) derselbe (Zeit. klin. Med., Bd. 43, 1901), [14]) GABRITSCHEWSKI (Deutsch. med. Woch. 1891), [15]) GRETHE (Fort. Med., 1896), [16]) GÜNTHER (Deutsch. med. Woch., 1897), [17]) GÜNTHER (Einführung in das Studium der Bakteriologie, Leipzig 1898), [18]) HAMMERSCHLAG (BAUMGARTEN's bakteriolog. Jahresber., 1889, pag. 259, 1891, pag. 667), [19]) HONSELL (Arb. path. Inst. Tübingen, Bd. 2, 1896), [20]) VAN KETEL (Arch. Hyg., Bd. 15), [21]) KITASATO (Zeit. Hyg., Bd. 11, 1892), [22]) KLEBS (Centr. Bakt., 1. Abth., Bd. 20, 1896), [23]) KLEIN (ebenda, Bd. 28), [24]) KOCH (Berl. klin. Woch., 1882 und Mitth. kais. Gesundh., 1884), [25]) derselbe (Verh. X. intern. med. Congr. Berlin 1890, Bd. 1), [26]) derselbe (Deutsch. med. Woch., 1897), [27]) KORN (Centr. Bakter., Bd. 25, 1899), [28]) LAABS (Inaug.-Diss. Freiburg i. Br. 1894). [29]) LUSTGARTEN (Wien. med. Woch., 1884 und Wien. med. Jahrb., 1885), [30]) MARMOREK (Zeit. Tub. u. Heilstättenwesen, Bd. 1), [31]) MATTERSTOCK (Verhandl. phys. med. Ges. Würzburg, 1885), [32]) MOELLER (Therapeut. Mon., 1898 und Centr. Bakt., Bd. 25, 1899), [33]) NEELSEN (Fort. Med., 1885), [34]) NEISSER (Breslauer ärztl. Zeit., 1879), [35]) PAPPENHEIM (Berl. klin. Woch, 1898), [36]) PETRI (Deutsch. med. Woch. 1897 und Arb. Kais. Gesundh., Bd. 14, 1898), [37]) AD. SCHMIDT (Centr. klin. Med., 1891), [38]) DE SCHWEIDNITZ und DORSET (Centr. Bakt., 1. Abth. Bd. 19, 1896), [39]) SPENGLER (Zeit. Hyg., Bd. 18, 1894, und Deutsch. med. Woch., 1895), [40]) STROSCHEIN (Mitth. aus Brehmers Heilanst, 1889), [41]) UNNA (Deutsch. Medicinalzeitung 1896), [42]) derselbe (Mon. prakt. Derm., 1885 und Centr. Bakt., Bd. 3, 1888), [43]) derselbe (ebenda, Bd. 12, 1891), [44]) WEIGERT (Deutsch. med. Woch., 1885), [45]) ZAHN (Inaug.-Diss. Tübingen 1884), [46]) ZIEHL (Deutsch. med. Woch. 1882), [47]) LICHTENSTEIN (Zeit. f. Tub., Bd. 3, 1902), [48]) EHRLICH (Charité-Annal., XI, 1884).

Friedrich Franz Friedmann, Berlin.

Tuchroth B. Primärer Disazofarbstoff, der durch Einwirkung von Amidoazotoluol auf α-Naphtolsulfosäure entsteht (Elberfeld). Rothbraunes Pulver, das in Wasser und Alkohol mit rother, in Schwefelsäure mit schwarz-

blauer Farbe löslich ist. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge schwarzblau, mit Salzsäure entsteht ein rother Niederschlag. Färbt chromgebeizte Wolle roth.

Tunikaten. Die mikrotechnische Bearbeitung der Tunikaten bietet im grossen und ganzen keine besonderen Schwierigkeiten.

Copelatae. Lo Bianco fixirt Appendicularien 5 Minuten lang in Chromessigsäure. Seeliger benutzt für den gleichen Zweck Formol; für die Darstellung der Muskelkerne fand er vortheilhafter Sublimat oder Platinchloridgemische.

Monascidien. Lo Bianco betäubt die ausgestreckten Thiere (Clavellina und Perophora) zuerst 3—12 Stunden in $1^0/_{00}$igem Chloralhydrat, tödtet sie dann in Chromessigsäure und überträgt noch für 30 Minuten in $1^0/_0$ige Chromsäure. Bei der Nachbehandlung mit Alkohol müssen die Thiere vom Munde aus injicirt werden. Ascidia und Rhopalaea können auch so betäubt werden, dass man $1^0/_0$ige Chromsäure tropfenweise auf das Seewasser giesst und dann mit Chromsäure tödtet. Für Ciona empfiehlt er in gleicher Weise Chromessigsäure. Ebenso verfährt Schultze für das gleiche Objekt. Die Betäubung wird dann unterbrochen, wenn die Siphonenränder nicht mehr empfindlich sind. Fixirt wird dann in Sublimat. Für das Ganglion eignet sich besser Flemming oder Sublimat-Essigsäure (2 Theile koncentrirtes wässeriges Sublimat und 1 Theil Essigsäure von $49^0/_0$). Nach Hunter giebt Hermann-sche Flüssigkeit für denselben Zweck (Cynthia) vorzügliche Resultate; Fixation 2 Stunden lang oder Sublimat bis zu 6 Stunden. Dahlgrün fixirt die Exkretionsorgane in $10^0/_0$igem Formol oder in Sublimateisessig.

Synascidien. Von den zusammengesetzten Ascidien tötet Lo Bianco die gelatinösen Formen in warmem Sublimat und überträgt für 30 Minuten in $1^0/_0$ige Chromsäure, konsistentere Formen dagegen werden zuerst durch Chloralhydrat betäubt und dann in Alkohol fixirt. Van Beneden taucht die ausgestreckten Thiere für 2—6 Minuten in Eisessig und überträgt sie dann in öfter zu wechselnden $50^0/_0$igen Alkohol. Ritter fixirt Synascidien in Pikrinschwefelsäure oder Chromessigsäure, Lefevre in koncentrirtem Sublimat mit $20^0/_0$ Eisessig oder noch besser nicht über 10 Minuten in Perénji'scher Flüssigkeit. Caullery setzt dem Seewasser tropfenweise $5^0/_0$iges Cocain zu und fixirt die betäubten Thiere mit Flemming oder Eisessig. Oka fixirt Botrylliden in heissem Sublimat.

Ascidiae salpaeformes. Lo Bianco fixirt Pyrosomen $^1/_4$ Stunde lang in $50^0/_0$igem Alkohol mit $5^0/_0$ Salzsäure und überträgt dann in $60^0/_0$igen und nach und nach in stärkeren Alkohol.

Desmomyaria. Zur Fixation der harten Salpen empfiehlt Lo Bianco $10^0/_0$ige Essigsäure, für halbweiche Formen $1^0/_0$ige Chromsäure mit $5^0/_0$ Essigsäure oder Pikrinschwefelsäure, für ganz weiche Formen ein Gemisch von 10 Theilen $1^0/_0$iger Chromsäure, 1 Theil Formol und 9 Theilen Seewasser, $^1/_2$—1 Stunde, dann steigender Alkohol.

Cyclomyaria. Dolioliden behandelt Lo Bianco ebenso wie weiche Salpen oder er fixirt sie in seinem Kupfersulfat-Sublimatgemisch (10 Theile $10^0/_0$iges Kupfersulfat und 1 Theil koncentrirtes Sublimat).

Embryologisches. Zur Fixation der für experimentelle Zwecke so vielfach benutzten Ascidieneier empfiehlt Floderus Sublimatessigsäure nach Lang oder ein Gemisch von 3 Theilen koncentrirter Pikrinsäure und 1 Theil Eisessig. Maurice und Schulgin fixiren den zerschnittenen Ascidienstock in halbverdünnter Pikrinschwefelsäure 12 Stunden und übertragen in steigenden Alkohol. Die isolirten Eier werden in Boraxkarmin und einer dünnen, mit Essigsäure etwas angesäuerten, alkoholischen ($70^0/_0$) Lösung von Bleu de

Lyon durchgefärbt und möglichst rasch durch die Alkohole in Paraffin gebracht. Nach CRAMPTON ist die halbgesättigte Pikrinsäure mit 1—2% Eisessig das beste Fixativ für reife Ascidieneier. Bei Sublimatfixation soll sich der Dotter zu stark mitfärben. SAMASSA fixirt die Eier von Ciona mit gleichen Theilen Glycerin, Eisessig und Wasser nach WILSON, nach CASTLE ist für diesen Zweck Perénji vorzuziehen (20 Minuten, dann 70%iger Alkohol), für Larven leistet Pikrinsalpetersäure bessere Dienste. DAVIDOFF empfiehlt für die Eier von Distaplia ein Gemisch von 3 Theilen koncentrirten Sublimats und 1 Theil Eisessig (½—1 Stunde) oder 3 Theilen koncentrirter Pikrinsäure und 1 Theil Eisessig (3—4 Stunden). Die erstere Mischung ist schon früher von SALENSKY für Eier und Embryonen von Diplosoma erprobt worden. Um die Grenzen der Follikelzellen deutlich zu machen, zerzupft MORGAN die frischen Ovarien von Ascidien in sehr verdünnter Osmiumsäure, wäscht in destillirtem Wasser aus und legt für je ½ Stunde in 1%iges Silbernitrat und 2%ige Essigsäure ein. Dann lässt er im Sonnenlicht reduciren und bettet in gewöhnlicher Weise ein.

Litteratur: LO BIANCO (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 9, 1890 und LEE u. MAYER [Grundzüge]), SEELIGER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 67, 1900), SCHULTZE (Jena. Zeit. Nat., Bd. 33, 1899), HUNTER (Zool. Bull., Bd. 2, 1898), DAHLGRÜN (Arch. mikr. Anat., Bd. 58, 1901), VAN BENEDEN (Cit. LEE u. MAYER [Grundzüge]), RITTER (Journ. Morph., Bd. 12, 1896), LEFEVRE (ebenda, Bd. 14, 1899), CAULLERY (Bull. Soc. France Belgique, Bd. 27, 1895), OKA (Zeit. wiss. Zool., Bd. 54, 1892), FLODERUS (ebenda, Bd. 61, 1896), MAURICE u. SCHULGIN (Ann. Sc. nat. Zool., Ser. 4, Bd. 17, 1885), CRAMPTON (Journ. Morph., Bd. 15, Suppl., 1899), SAMASSA (Arch. mikr. Anat., Bd. 44, 1894), CASTLE (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard, Bd. 27, 1896), DAVIDOFF (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 16, 1899), SALENSKY (ebenda, Bd. 11, 1894).

Turbellarien siehe Würmer.

Tusche als Injektionsmasse siehe pag. 575 und 611.

Typhusbacillen siehe Abdominaltyphus.

Tyrosin, $C_6H_4\begin{cases}OH\\C_2H_3(NH_2)-COOH\end{cases}$, findet sich unter pathologischen Umständen in Leber, Milz, Harn, Sputum und entsteht bei der Pankreasverdauung und Fäulniss der Eiweisskörper. Zu seiner Erkennung dient die eigenthümliche Krystallform, büschel- oder garbenförmig angeordnete, weisse, seidenglänzende Krystallnadeln. Mikrochemisch lässt es sich durch die SCHERER-sche Probe nachweisen. Man verdampft die zu untersuchende Probe auf dem Platinblech mit Salpetersäure von 1,2 spec. Gew. Der tiefgelbe Rückstand wird mit Natronlauge rothgelb und beim Verdunsten schwarz. Sehr empfindlich ist die Reaktion von R. HOFFMANN. Man versetzt die zu untersuchende Flüssigkeit mit salpetersaurem Quecksilberoxyd, erwärmt, setzt etwas verdünnte rothe Salpetersäure zu und erwärmt nochmals. Es bildet sich dann eine dunkelrothe Flüssigkeit und ein ebensolcher Niederschlag. (Siehe auch Zellmembranen, pflanzliche und Verholzung.)

U.

Ueberosmiumsäure siehe Osmiumsäure.

Ueberruthensäure siehe Rutheniumtetroxyd.

Ultramarin, ein Doppelsilikat von Natrium und Aluminium in Verbindung mit Natriumsulfid, wird erhalten durch Glühen eines Gemenges von Thon, Quarzsand, Soda, Schwefel und Kolophonium. Es ist in Wasser und Alkohol ganz unlöslich, auch gegen Alkalien sehr beständig. Mineralsäuren scheiden aus ihm Kieselsäure und Schwefel ab.

Das Ultramarin dient in der Mikrotechnik zur Herstellung blauer opaker Injektionsmassen (vergl. Injektion der Blut- und Lymphgefässe).

Uransalze. Das zur Gruppe des Molybdäns gehörige Uran bildet zwei Reihen von Salzen, Urano- und Uraniverbindungen, je nachdem es als vier- oder sechswerthiges Element auftritt. Für die Mikrotechnik sind nur das Uraniacetat und -nitrat von Bedeutung.

Uraniacetat, $(CH_3 - CO \, . \, O)_2 \, UO_2 + 3 \, H_2O$, krystallisirt in gelben Oktaëdern, die in Wasser leicht löslich sind. Die wässerige Lösung zersetzt sich am Licht.

Uraninitrat, $UO_2 \, (NO_3)_2 + 6 \, H_2 \, O$, bildet gelbgrüne Prismen, die in Wasser, Alkohol und Aether leicht löslich sind.

Beide Salze haben Verwendung als Fixationsmittel gefunden entweder für sich allein (Schenk) oder in Verbindung mit Osmiumsäure. Kolossow setzt zu einer 2—3%igen wässerigen Lösung eines der beiden Salze 0,5% Osmiumsäure.

Auch als Beizmittel für Karmin- und Hämatoxylinpräparate haben die beiden Salze eine beschränkte Verwendung gefunden (vergl. auch pag. 638).

Litteratur: Schenk (Mit. Embryol. Inst. Wien, Bd. 2, 1882), Kolossow (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888).

Urase siehe Enzyme.

Uterus. Die mächtige Entwicklung der Muskulatur innerhalb der Uteruswand bringt es mit sich, dass bei grösseren Thieren die Fixationsflüssigkeit nur langsam in das Innere vordringt, so langsam, dass das Epithel bereits macerirt sein kann, bevor das Fixativ an es herantritt. Um diesem Uebelstand zu begegnen, kann man einmal die Fixationslösung vom äusseren Muttermund oder von der Tube aus injiciren. Dieses Verfahren bedingt jedoch in vielen Fällen eine Verletzung des Epithels. Man wird deshalb lieber die Lösung von den zuführenden Gefässen (Art. uterin. resp. hypo-

gastrica) injiciren, jedenfalls die idealste Fixationsmethode. Lässt sich eine solche Injektion aber nicht ausführen, so bleibt weiter nichts übrig, als das Organ zu eröffnen und in die Fixationslösung einzulegen. Diese Eröffnung geschieht gewöhnlich durch einen Längsschnitt in der Mitte der vorderen oder hinteren Wand vom Fundus bis zum äusseren Muttermunde.

Nur bei kleineren Thieren etwa bis zum Meerschweinchen hinauf lässt sich noch der Uterus unaufgeschnitten mit Erfolg konserviren.

Als Fixationslösung wird man für den Uterus grosser Thiere und des Menschen möglichst leicht eindringende Mittel wählen. In neuerer Zeit erfreut sich das Formol in 4—10%iger wässeriger Lösung einer grossen Beliebtheit (Bertelsmann, Werth und Grusdow, Fränkel, Pick, Woltke). Früher hat man sich zu diesem Zweck fast allgemein der Müller'schen Flüssigkeit bedient, welche auch heute noch in der mikrotechnischen Bearbeitung des Uterus eine grosse Rolle spielt. Man soll dabei ein Bewegen der Flüssigkeit möglichst vermeiden, da sonst das Epithel leicht abgespült wird. In den ersten Tagen darf die Flüssigkeit, deren Menge gleich von Anfang an recht gross gewählt wird, nicht gewechselt werden (Mandl). Auch die Kombination von Müller und Formol in der Form der Orth'schen Mischung (vergl. pag. 401) liefert gute Resultate. Von manchen Seiten ist auch der absolute Alkohol für den Uterus empfohlen worden (Woltke, Wyder, Düvelius, Landau und Abel).

Dührssen fixirt in 10%iger Salpetersäure und chromirt dann nach dem Vorgang von Benda in Müller'scher Flüssigkeit. Den Uterus kleiner Thiere kann man in toto in Pikrinschwefelsäure (Rathke), Formol (Fränkel), Hermann'scher oder Flemming'scher Flüssigkeit (Nolf) fixiren. Besonders die letztere Flüssigkeit leistet vorzügliche Dienste, wenn man auf ganz junge Embryonalstadien fahndet. Sublimat ohne weitere Zusätze scheint ein für das Uterusgewebe wenig geeignetes Fixationsmittel zu sein, dagegen erhält man nach unserer Erfahrung mit Zenker'scher Flüssigkeit ganz ausgezeichnete Resultate, vor allem auch für das Uterusepithel. Nach Sobotta soll dieses Mittel auch frühere Entwicklungsstadien der Eier (nach der Furchung) ausgezeichnet konserviren.

Als Einbettungsmethode eignet sich die Celloidineinbettung vor allem für grössere Uteri dann, wenn es darauf ankommt, Uebersichtsschnitte durch das ganze Organ oder grössere Theile desselben zu gewinnen. Für kleinere Uteri und kleine Stückchen grösserer ist die Paraffineinbettung am Platz.

Als diejenige Färbemethode, welche die meisten Bestandtheile des Organs gut darstellt und vorzüglich differenzirt, ist die Giesonfärbung zu bezeichnen, die besonders schön Muskulatur und Bindegewebe von einander abhebt (Fieux). Für das Epithel ist besonders die Eisenhämatoxylinfärbung zur Sichtbarmachung der Kittleisten und Centrosomen (?) zu empfehlen. Für die besonders häufig am äusseren Muttermund sich findenden grossen Schleimdrüsen färbt man am besten mit einem guten Böhmer'schen oder Ehrlich'schen Hämatoxylin oder Mayer'schen Muchämateïn vor und mit der Gieson'schen Pikrinfuchsinmischung nach.

Zur Sichtbarmachung der elastischen Fasern hat Dührssen Gefrierschnitte von Material aus 0,2%iger Chromsäure mit Fuchsin nach Unna oder Safranin nach Martinotti gefärbt. Ausserordentlich klare und prächtige Präparate erhält man mit der Weigert'schen Färbung für Elastin (Woltke, Pick). Man schickt am besten eine Färbung in Alaunkarmin voraus, abspülen in Wasser, färben 1/2—1 Stunde in der Weigert'schen Lösung, kurzes Abspülen in 95%igem Alkohol und Wasser, Nachfärben ca. 1 Minute in Pikrinfuchsin, Abspülen in Wasser und Entwässern in Alkohol etc. (Pick).

Zur Isolation der Muskelfasern dient meist Kalilauge; Bertelsmann legt altes Alkoholmaterial zu diesem Zweck 1—2 Tage in 30%ige Salpetersäure ein.

Zur Darstellung der Nerven des Uterus eignet sich vorzüglich die rasche Golgimethode, 24—30 Stunden in Osmium-Bichromat (KÖSTLIN, VON GAWRONSKY), KALISCHER empfiehlt Färbung auf dem Objektträger in 0,1- bis 0,2%iger Methylenblaulösung, PATENKO injicirt interstitiell eine 0,1- bis 0,5%ige Lösung von Goldchlorid oder Osmiumsäure und zerzupft dann kleine Stückchen.

Ueber die Injektion der Uterusgefässe vergleiche man vor allem die Arbeiten von FREDET. Ueber Bearbeitung von ausgekratztem Material siehe pag. 435.

Litteratur: BERTELSMANN (Arch. Gynäk., Bd. 50, 1895), WERTH und GRUSDOW (ebenda, Bd. 55, 1898), FRÄNKEL (ebenda), PICK (Sammlung klinischer Vorträge, N. F., Nr. 283, 1900), MANDL (Arch. Gynäk., Bd. 52, 1896), WOLTKE (Beitr. path. Anat., Bd. 27, 1900), WYDER (Arch. Gynäk., Bd. 13, 1878), DÜVELIUS (Zeit. Geburt. Gynäk., Bd. 10, 1884), LANDAU und ABEL (Arch. Gynäk., Bd. 38, 1890), DÜHRSSEN (ebenda, Bd. 41, 1891), RATHKE (Virch. Arch., Bd. 142, 1895), SOBOTTA (Arch. mikr. Anat., Bd. 61, 1902), FIEUX (Journ. de l'anat., Jahrg. 35, 1899), KÖSTLIN (Fort. Med., Jahrg. 12, 1894), VON GAWRONSKY (Centr. Gynäk., Jahrg. 18, 1894), KALISCHER (Sitz. Preuss. Ak. Wiss. 1894), PATENKO (Centr. Gynäk., Jahrg. 4, 1880), FREDET (Journ. de l'anat., Jahrg. 35, 1899).

V.

Vagina. Für die Untersuchung der Vaginalschleimhaut können die meisten der auch für die äussere Haut benutzten Methoden Anwendung finden und sehe man dort das Nähere ein. Zum Studium des elastischen Gewebes empfiehlt sich Orceïn oder noch besser die WEIGERT'sche Färbung mit Nachfärbung in Pikrinfuchsin oder Vorfärbung in Alaun- oder Lithionkarmin (OBERMÜLLER).

Zur Färbung der Nerven bevorzugt ARONSON vitale Injektion von Methylenblau, KALISCHER Einlegen der Schleimhaut in 0,1—0,2%ige Methylenblaulösung, CHRSCHTSCHONOWITSCH Behandlung mit Goldchlorid und Weinsäure (vergl. pag 451), KÖSTLIN stellt sie mittels der Golgimethode dar (24 Stunden in Osmiumbichromat).

Litteratur: OBERMÜLLER (Beitr. path. Anat., Bd. 27, 1900), ARONSON (Inaug.-Diss. Berlin, 1896), KALISCHER (Sitz. Preuss. Ak. Wiss., 1894). CHRSCHTSCHONOWITSCH (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 63, 1871), KÖSTLIN (Fort. Med., Jahrg. 12, 1894).

Vanadiumverbindungen. Von ihnen haben in der Mikrotechnik das Vanadiumchlorid und das Ammoniumsalz der Vanadinsäure eine sehr beschränkte Anwendung gefunden.

Von den drei existirenden Chloriden des Vanadiums bildet das Vanadiumdichlorid, VCl_2, grüne, leicht zerfliessliche Krystalle, die in Wasser unter Bildung von salzsaurem Vanadiumoxydul leicht mit blauer Farbe löslich sind. In Alkohol lösen sie sich leicht mit blauer, in Aether mit grüner Farbe. Ganz ähnlich verhalten sich die rothen Krystalle des Vanadiumtrichlorids, VCl_3. Die höchste Chloridstufe endlich, das Vanadiumtetrachlorid, stellt eine braunrothe Flüssigkeit dar, welche sich unter Bildung von Tetroxyd in Wasser mit blauer Farbe löst.

Die Vanadinsäure bildet Salze, die den Meta-, Ortho- und Pyrophosphaten entsprechen, von denen aber nur die Metavanadate einigermassen konstant sind, aus ihren Lösungen werden sie durch Gerbsäure blauschwarz, durch Silbernitrat gelb ausgefällt. Ammoniumvanadat, NH_4VO_3, ist ein in Wasser unlösliches, krystallinisches Pulver. Ein wasserlösliches Salz erhält man nach BERZELIUS, wenn man Vanadinsäure in starkem Ammoniak löst und langsam verdunsten lässt. Ein Ammoniumdivanadat erhält man, wenn man zu der Lösung des letzteren so lange Eisessig zusetzt, bis sie sich gelb färbt. Es resultiren dann hellrothe, in Wasser lösliche, in Alkohol unlösliche Krystalle.

Das Vanadiumchlorid (wohl das Dichlorid) ist zuerst von KRAUSE für die Retina empfohlen worden. Er behandelt dieselbe zunächst mit einer 2%igen wässerigen Lösung des Salzes, dann mit 2%iger Pyrogallussäure. Aehnlich geht AZOULAY vor, nur benutzt er statt des Chlorids das Ammo-

niumvanadat in 1%iger Lösung und dann 5%iges Tannin. Die Vanadiumverbindungen bilden mit Hämatoxylin blau gefärbte Lacke. Diese Eigenschaft ist zuerst von WOLTERS, später von HEIDENHAIN und COHN benutzt worden. (Näheres siehe pag. 518.)

Litteratur: KRAUSE (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 1, 1884), AZOULAY (C. r. Soc. Biol., Sér. 10, Bd. 1, 1884), WOLTERS (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1891), derselbe (Arch. Derm. Syph., 1892), HEIDENHAIN und COHN (Anat. Hefte, Bd. 5, 1895).

Vanillin siehe Zellmembrane, pflanzliche.

Vaseline, ein Weichparaffin, das aus den Rückständen bei der Petroleumdestillation gewonnen wird. Es schmilzt zwischen 30 und 40°, besitzt eine festweiche, salbenartige Konsistenz und ist von neutraler Reaktion.

Die Vaseline findet in der Mikrotechnik zum Einfetten von Instrumenten, Mikrotomschlitten und -bahnen etc. Anwendung.

Vegetationspunkt der Pflanzen siehe Aufhellen pflanzlicher Gewebe.

Venetianische Seife, Marseiller Seife, Sapo venetus, eine Natronölseife, die in Frankreich und Italien aus Natronlauge und den schlechten Sorten von Olivenöl bereitet wird. Es ist eine feste, weisse, trockene Seife, welche in warmem Wasser oder Alkohol völlig löslich ist.

NISSL hat seiner Methylenblaulösung eine Spur von venetianischer Seife zugesetzt.

Venetianischer Terpentin siehe Terpentin.

Verdauung, künstliche, als histologische Methode beruht darauf, dass die im thierischen Körper und in der Pflanze vorkommenden Enzyme die einzelnen Gewebsbestandtheile in verschiedenem Grade oder in verschiedener Zeit auflösen, und dass sie dadurch zur gesonderten Darstellung eines oder mehrerer Bestandtheile benutzt werden können. Bisher sind für histologische Zwecke nur verwendet worden: Pepsin, Trypsin (= Pankreatin), Papayotin und Bromelin. Auch die Versuche mit den Stoffwechselprodukten verschiedener Bakterien können hierher gerechnet werden.

Angaben über die Wirkung des Magensaftes auf einzelne Gewebe, namentlich Muskeln, finden sich schon in der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts, zuerst wohl (nach SCHWANN, Mikroskop. Untersuchungen u. s. w., 1839, pag. 162) bei PURKINJE, dann bei FRERICHS (WAGNER's Handwörterbuch der Physiologie, Artikel: Verdauung, Bd. 3, 1. Abth., 1846, pag. 814, mit Abbildung). Die erste Anwendung der Verdauungsflüssigkeiten für histologische Untersuchungen geschah durch ROLLETT (1857), welcher den Magensaft 1857 zum Studium des Aufbaues der quergestreiften Muskelfasern und 1858 zur Deutlichmachung der elastischen Fasern und der Kerne in der Sehne anwandte, und durch LECONTE und FAIVRE (1857), welche bei ihren Untersuchungen über das Nervensystem des Blutegels auch prüften, welche Wirkung der Magen- und Pankreassaft auf Nervenfasern und -zellen ausübt und inwieweit diese Flüssigkeiten zur isolirten Darstellung dieser Gewebselemente brauchbar sind.

Ganz allgemein ist Folgendes zu bemerken: Die Wirkung einzelner Enzyme auf manche Gewebsbestandtheile steht auch heute noch nicht ganz fest. Der Wirkungsgrad der Enzyme ist verschieden je nach der Thierart, nach dem physiologischen Zustande des Ausgangsmaterials, nach der Zeit, welche seit dem Tode verstrichen ist, nach der Art der Extraktion und nach der Aufbewahrungsweise. Man thut daher stets gut, sich durch Probeverdauungen (siehe später) über die Wirksamkeit der anzuwendenden Enzyme Gewissheit zu verschaffen.

Exaktes Arbeiten ist bei diesen Methoden noch mehr nothwendig als sonst in der histologischen Technik!

1. Pepsin ist ein Enzym des Magensaftes, welches seine Wirksamkeit in saurer Lösung entfaltet.

Die Verdauungsfähigkeit eines Magensaftes hängt wesentlich von der Menge des Pepsins ab, ist bei einem bestimmten Gehalt am grössten, wird jedoch bei Zunahme oder Abnahme des Gehaltes kleiner. Hundepepsin ist wirksamer als Schweine- oder Rinderpepsin. Die Geschwindigkeit der Verdauung ist auch in gewissen Grenzen abhängig von der Art der angewandten Säure und von ihrer Koncentration. Bei Anwendung von Salzsäure schwankt das Optimum der Wirkung auf verschiedene Stoffe zwischen einem Säuregehalt von 0,08% und 0,25%, und es wird als mittlerer Werth allgemein 0,1—0,2% angegeben. Die für die Wirkung günstigste Temperatur liegt etwa bei 40° C; niedrigere Temperaturen vermindern nur die Geschwindigkeit der Verdauung, und selbst eine Temperatur von 0° C hebt sie nicht vollständig auf. In einer angesäuerten Lösung wird das Pepsin bei Erwärmung auf 65° rasch zerstört, während es im trockenen Zustande auf über 100° C erhitzt werden kann, ohne seine physiologische Wirkung zu verlieren.

Angesäuerte Pepsinlösungen bringen native und geronnene Eiweisskörper zum Aufquellen und lösen sie dann auf. Die kollagene Substanz des Bindegewebes, Knorpels und Knochens, sowie das Mucin wird schneller, das Elastin langsamer verdaut. Das Nukleïn wird gar nicht oder nur sehr langsam gelöst, das Keratin, Neurokeratin und Chitin wird nicht angegriffen; ebenso wird Fett nicht verändert. Auch auf Kohlehydrate ist das Pepsin unwirksam.

Für histologische Untersuchungen kommt es bei der Pepsinverdauung vielfach auf zeitliche Unterschiede an, meist darauf, in welcher Reihenfolge die Gewebe gelöst werden; am Ende einer wirksamen Verdauung bleibt nur das Verhornte übrig nebst dem Nukleïn der Kerne (Kühne 1878).

Durch vorhergehende Einwirkung anderer Flüssigkeiten auf die Gewebe wird die Wirkungsweise des Pepsins theilweise verändert.

Vorbehandlung mit Alkohol macht die Gewebe leichter verdaulich (Bikfalvi 1883, Ewald 1890); Erhärtung der Organe in Chromsäure macht sie nach Bikfalvi (1883) und Witkowski (1883, pag. 157) unlöslich (nach letzterem auch die Erhärtung in Chromsäuresalzen), während nach Ewald (1890) das Resultat für kollagene Fasern verschieden ist, je nachdem die Chromsäure im Hellen oder im Dunkeln eingewirkt hat (Genaueres siehe pag. 1324). Fixirung in 0,5%iger Osmiumsäure macht die kollagenen Fasern sehr schwer löslich, die elastischen Fasern unlöslich (Ewald 1890, s. auch pag. 1324). Fixirung in einem Gemisch von 10 Theilen 2%igem doppeltchromsauren Kali und 2 Theilen 1%iger Osmiumsäure macht Nerven fast unverdaulich (Gedoelst 1887). Nach Fixirung in Pikrinsäure sind kollagene Fasern unverdaulich, elastische Fasern vielleicht leichter verdaulich als vorher (Ewald 1890). An Nerven von Säugethieren wird durch Kochen mit Alkohol und Benzol, sowie durch Aether das Bindegewebe so verändert, dass es durch Magensaft nicht völlig zerstört wird (Kühne und Chittenden 1890).

Ueber Unterschiede in der Verdaulichkeit der Gewebe verschiedener Thiere finde ich nur die Angabe von Stirling (1875), dass die Haut des Hundes weit leichter verdaulich ist als diejenige des Menschen.

Ueber die Wirkung des Magensaftes auf die Bestandtheile der Pflanzenzellen liegen ausführliche Angaben von Frank Schwarz (1892) vor (siehe Original).

Die Wirksamkeit der zu verwendenden Pepsinlösung ist womöglich durch eine Verdauungsprobe zu prüfen. Man benutzt dazu am bequemsten Fibrin, welches durch Schlagen frisch gelassenen Rinderblutes erhalten und in fliessendem Wasser ausgewaschen wird, bis es vollkommen weiss aussieht; es kann, nachdem es stark ausgepresst ist, in Glycerin eingelegt und fast beliebig lange aufbewahrt werden. Eine Flocke dieses Fibrins (vom anhaftenden Glycerin durch langes Auswässern befreit) soll von einer gut wirkenden Pepsinlösung bei Körpertemperatur in kurzer Zeit verdaut werden; es empfiehlt sich jedoch, das Fibrin nur abgekocht zu verwenden.

Mit Vortheil kann man sich bei der Probeverdauung auch des Grützner'schen Karminfibrins, welches ebenso wie das vorhergehende von Dr. G. Grübler, Dresden-Plauen, fertig bezogen werden kann, bedienen. Mit fortschreitender Verdauung des Fibrins löst sich auch die entsprechende

Karminmenge, und so zeigt der Eintritt der Färbung der Flüssigkeit die Wirksamkeit, die Stärke der Färbung die Kraft der angewandten Verdauungslösung an.

Die Angaben über die Darstellung der Pepsinlösungen schwanken beträchtlich bei den verschiedenen Autoren. Theilweise sind unmittelbar die verschiedensten Präparate des Handels benutzt worden; theilweise finden sich besondere Vorschriften angegeben. Von den letzteren sind für histologische Untersuchungen folgende empfohlen worden:

α) Beale (1858) schreibt vor, den aus den Drüsen des Schweinemagens ausgepressten Saft rasch auf Glasplatten zu trocknen, zu pulverisiren und in Glasflaschen aufzubewahren. Er hält sich Jahre lang. 1 Theil löst 125 Theile koagulirtes Eiweiss auf. Für den Gebrauch löst man das Pulver in destillirtem Wasser auf und filtrirt, oder löst es in Glycerin. Man lässt dann die Flüssigkeit einige Stunden lang bei 37° C einwirken.

β) Tillmanns (1876) giebt aus dem Ludwig'schen Laboratorium folgende Darstellung an. Der Magen eines frisch getödteten Hundes wird 24 Stunden in destillirtem Wasser auf Eis aufgehoben; dann wird die Schleimhaut möglichst rein abgewaschen, von der Submucosa und Muscularis sorgfältig abpräparirt und in kleinste Stückchen zerschnitten. Diese werden für mehrere Tage in Glycerin übertragen. Die Wirkung ist desto besser, je weniger Glycerin man nimmt, und je länger es mit den Schleimhautstücken in Berührung bleibt. Vom abfiltrirten Glycerinauszug nimmt man 10 bis 12 Tropfen zu etwa 35 Ccm. einer 0,1 bis 0,2%igen Salzsäurelösung.

γ) W. Kühne (1878) empfiehlt, für zarte Objekte anstatt der Salzsäure eine Oxalsäure von 0,3% zu verwenden, welche auf je 100 Ccm. mit 1 Ccm. bestem Pepsin-Glycerin versetzt wird.

δ) Smith (1883) empfiehlt aus dem Kühne'schen Laboratorium folgendes Verfahren zur Darstellung eines besonders wirksamen Präparates. Er digerirt die abpräparirte grob zerschnittene Schleimhaut eines frischen Schweinemagens in 0,4%iger Salzsäure (auf 132 Grm. Schleimhaut nimmt er 5 Liter Säure) bei 40° C 6 Stunden lang. Die Lösung filtrirt fast klar und verdaut eine vorher erwärmte Flocke rohen Fibrins momentan, nach Verdünnung mit der 100fachen Menge 0,2%iger Salzsäure in $3^1/_2$ Minuten. Für die Darstellung der Pepsin-Oxalsäure wird die unverdünnte Verdauungslösung auf fliessendem Wasser dialysirt, bis die saure Reaction und das Chlor verschwindet, und dann die so erhaltene neutrale Pepsinlösung mit 0,3%iger Oxalsäure versetzt.

ε) Bikfalvi (1883) löst je 1 Grm. mit Alkohol behandelter und getrockneter Magenschleimhaut in 20 Ccm. 0,5—1%iger Salzsäure bei Brutwärme und erhält nach 3—4 Stunden das Filtrat als eine kräftige Verdauungslösung.

ζ) Gedoelst (1887) lässt die Schleimhaut eines Kälber-Labmagens 24 Stunden in destillirtem Wasser maceriren, filtrirt dann sorgfältig und vermischt das Filtrat mit 3 Volumina einer 0,2%igen Salzsäure.

η) Kühne und Chittenden (1890) benutzen Magensaft, welchen sie durch Selbstverdauung von 1 Theil Schleimhaut des Schweinemagens mit 20 Theilen 4%iger Salzsäure erhalten und in der Kälte mässig thymolisirt aufbewahren. Ausserdem verwenden sie auch (ebenda pag. 316) Glycerinmischungen von $^1/_3$ und $^1/_5$ Pepsinglycerin (aus einer selbst dargestellten gesättigten Pepsinglycerinlösung bereitet). Mit Ausnahme der letzten, gesättigten Mischung verdauen alle gekochtes Fibrin fast momentan. Thymolisiren schadet dem Verdauungsvermögen nichts und macht die Lösungen sehr lange haltbar.

ϑ) Behn (1892) arbeitete anfangs mit einer gut verdauenden Pepsinlösung, welche er sich nach der Vorschrift von Hoppe-Seyler (Handb. d. physiol. und pathol.-chemischen Analyse 1883) aus der abpräparirten Magenschleimhaut (von Schwein, Kalb, Katze) frisch dargestellt hatte. Später benutzte er konservirte Präparate des Handels, nämlich Pepsinum siccum (des Arzneibuches für das Deutsche Reich), Pepsinum concentratum Langenbeck, Vinum pepsini (des Arzneibuches für das Deutsche Reich) und Vinum pepsini Blell, letztere zwei gut haltbare Glycerinextrakte. Schliesslich wandte er aus äusseren Gründen fast ausschliesslich folgende Lösung an: Vinum pepsini Blell 4 Theile, officinelle Salzsäure 2 Theile, destillirtes Wasser 125 Theile. Das Pepsin. concentr. Langenbeck scheint kein reines Pepsinpräparat, sondern mit Trypsin vermischt zu sein. Die konservirten Präparate des Handels verdauen nicht so vollkommen wie frische Extrakte der Magenschleimhaut.

ι) Zacharias (1898) bereitet den Magensaft nach der Vorschrift von Klug (1895). Dieser setzt 5 Grm. getrockneter Magenschleimhaut mit 200 Ccm. 0,3%iger Salzsäure einer 24 Stunden währenden Verdauung aus und filtrirt dann; der Rückstand kann noch mehrfach in der gleichen Weise behandelt werden, und es sind die späteren Auszüge theilweise wirksamer als der erste. Die Wirksamkeit des ersten Auszuges kann dadurch gesteigert werden, dass man ihn vor dem Gebrauch einer 24stündigen Selbstverdauung unterwirft.

Bei der Leichtigkeit, mit welcher sich jetzt durch die von Pawlow angewandten Operationsverfahren grosse Mengen reinen Magensaftes aus

Magenfisteln erhalten lassen, liegt der Gedanke nahe, für Verdauungsversuche künftighin diesen Magensaft unmittelbar oder wenigstens als Ausgangsmaterial für die Darstellung kräftig wirkender Pepsinlösungen zu benutzen.

Die Pepsinverdauung hat bisher einerseits als »unterbrochene (fraktionirte)« Verdauung zur Aufhellung injicirter oder nicht injicirter Gewebe gedient, um auch dickere Schnitte von ihnen leichter durchsichtig zu machen, oder zu Untersuchungen über die Anordnung, den Aufbau und die Entwicklung der elastischen Fasern; andererseits sind vollkommen zu Ende geführte (»maximale«) Verdauungen, namentlich für Forschungen über die Bestandtheile der Kerne, über das Neurokeratin und über die keratinhaltigen Elemente verwendet worden.

Die Wirkung der Pepsinverdauung auf verschiedene frische Gewebe überhaupt prüfte Burg (1876) an einem mit 0,2% Salzsäure versetzten Glycerinauszug eines Hundemagens bei 38° C. Er fand, dass durch die ungefähr gleiche Pepsinmenge Knorpel-, Fett-, Muskel und Bindegewebe nach 14 bis 24 Stunden, elastisches Gewebe und Nervengewebe erst nach mehreren Tagen zerstört wird, während unentkalkter Knochen fast unverändert bleibe (siehe dagegen Smith 1883).

A. Fraktionirte Verdauung.

a) Zum Aufweichen und Aufquellen überhaupt, und namentlich zur Sichtbarmachung der elastischen Fasern. Rollett (1858) benutzt den künstlichen Magensaft zur Deutlichmachung der elastischen Fasern und Kerne in der Sehne. Stirling (1875) spannt ein Stück Haut auf einen Glasring und verdaut es 4 bis 6 Stunden lang in einem 0,2% Salzsäure enthaltenden Glycerinpepsin, das er alle 2 Stunden erneuert. Dann wird das Stück mit kaltem Wasser abgespült und für 24 Stunden in destillirtes Wasser übertragen, wo es um das 4—6fache aufquillt. Darauf werden Schnitte gemacht, gefärbt, oder in chromsaurem Kali gehärtet u. s. w. Das gleiche Verfahren wendet er auch für Stücke an, deren Gefässe mit wässeriger Berlinerblau-Lösung maximal injicirt sind. Tillmanns (1876) und Gaskell (1876) benutzen ein ähnliches Verfahren für das Studium der mit Berlinerblau-Lösung durch Einstich injicirten Lymphgefässe der Synovialmembranen und des Kehldeckels. Die Gewebsstücke werden bei 38—40° C. mehrere Stunden bis Tage verdaut; bei längerer Dauer Wechsel der Flüssigkeit. Dann wäscht man sorgfältig aus, kann einbetten, schneiden und färben. Die kollagenen Fasern sind zerstört oder wenigstens stark gequollen, die zelligen Gebilde sind erhalten oder theilweise zerstört, die Kerne und elastischen Fasern treten sehr deutlich hervor. Unna (1883, 1) hat zur Darstellung des Gerüstes der elastischen Fasern in der menschlichen Haut ebenfalls allmähliche Verdauung der Cutis mittels Pepsin-Salzsäure angewandt; nach dem Auswaschen überfärbt er mit Eosin-Hämatoxylin und entfärbt durch Eintauchen in Eisessig.

b) Zum Studium der Grundsubstanz des Knochens und Knorpels. Broesike (1882 u. 1886) benutzte wiederholt unter anderen Methoden auch diejenige der Pepsinverdauung zur Isolirung der Grenzscheiden des Knochenkanalsystems. Smith (1883) prüfte mit derselben Methode (siehe Methoden der Darstellung) diese Gebilde auf ihre Aehnlichkeit mit keratinartigen Substanzen. Broesike arbeitete dabei zuerst (1882) mit einem Pepsin des Handels, stellte sich dann aber für seine zweite Untersuchungsreihe (1886) das Pepsin nach der Vorschrift von Smith selbst dar und fand dieses sehr viel wirksamer. Morawitz (1892) findet, dass sich an dünnen Schnitten vom Rippenknorpel älterer Individuen bei Behandlung mit einer Lösung von 0,5%iger Salzsäure und Pepsinum purum bei 40° C die Chondrinballen nach ca. 12—24 Stunden gelöst haben.

c) Zum Studium des Baues und der Entwicklung der elastischen Fasern. PFEUFFER (1879) untersuchte mit einer Pepsin-Glycerin-Lösung (Zusatz von 0,3%iger Oxalsäure nach KÜHNE) die Veränderungen, welche die elastischen Fasern verschiedenen Alters unter dem Einflusse der Verdauung theilweise bei Zimmertemperatur, theilweise bei 40—42° C erleiden. EWALD (1890) wiederholte und erweiterte diese Versuche. Er benutzt als Säuren 0,2%ige Salzsäure oder 0,33%ige Oxalsäure und versetzt je 100 Ccm. verdünnter Säure mit 2 Ccm. aus Schweinemagen bereitetem Pepsinglycerin. Die Pepsin-Oxalsäure wirkt etwas langsamer und giebt Niederschläge von feinsten Krystallen (oxalsaurer Kalk?) auf dem Präparat. Er verdaut bei 40° C oder bei Zimmertemperatur, oder erst warm, dann kalt und kombinirt auch Trypsin- und Pepsinverdauung (nach einander!). Präparate aus Alkohol sind etwas leichter verdaulich als frische. Nach Fixirung kleiner Stücke elastischer Bänder in 0,5%iger Osmiumsäure (24—48 Stunden lang) und Auswaschen in destillirtem Wasser löst sich das Bindegewebe sehr schwer in Pepsin (erst nach 5—6 Tagen), und die elastischen Fasern werden gar nicht angegriffen (auch nach 14 Tagen nicht). Nachfolgende Trypsinverdauung wirkt dann aber ganz rapid. Nach 14tägiger Fixirung in 0,03%iger Chromsäurelösung im Dunklen und Auswaschen wird die Verdaulichkeit nicht verändert, nach gleicher Fixirung im Hellen und Auswaschen sind die kollagenen Fasern in Pepsin unverdaulich, die elastischen Fasern verdaulich. Fixirung in MÜLLER'scher Lösung hat keinen wesentlichen Einfluss auf die Verdaulichkeit. Fixirung in koncentrirter wässeriger Pikrinsäurelösung mit mehrtägigem Auswaschen in Wasser macht die elastischen Fasern verdaulich, die kollagenen nicht. MALL (1891 u. 1892) hat ebenfalls die Veränderungen der elastischen Fasern, sowie diejenige der Sehne untersucht. Er benutzte drei Verfahren. Entweder er verfütterte die Gewebe einem Hunde und tödtete das Thier einige Stunden später; die Sehnenfasern waren dabei nicht schneller gelöst als die elastischen Fasern. Oder er benutzte einen durch Extraktion der Schleimhaut mit Glycerin und Ansäuern mit verdünnter Salzsäure hergestellten Verdauungssaft; oder er benutzte käufliche Pepsine, welche er fast alle brauchbar fand. In den künstlichen Säften löst sich die Sehne viel rascher als das elastische Gewebe und als das Retikulum. KUSKOW (1887) sucht mit diesem Verfahren den Zusammenhang der sich entwickelnden elastischen Fasern mit den Zellkernen bei Embryonen nachzuweisen. Er breitet Schnitte (nicht über 5 μ dick) aus dem in 85%igem Alkohol gehärteten Nackenband in Wasser aus, überträgt sie in eine frisch bereitete Lösung von 0,1 Theil officinellen Pepsins in 20 Theilen 3%iger* Oxalsäure für 10—40 Minuten bei Zimmertemperatur. Dann spült er sie wieder in Wasser aus, färbt die Kerne 24 Stunden in Ammoniakkarmin, differenzirt in schwacher Essigsäure, spült in Wasser ab und überträgt entweder unmittelbar oder erst nach 1—3stündiger Behandlung mit koncentrirter Pikrinsäurelösung in Glycerin.

d) Zum Studium einiger anderer Gebilde. LECONTE und FAIVRE (1857) isolirten durch 10 Minuten lange Einwirkung von Magensaft beim Blutegel Nervenfasern und Nervenzellen nebst Ausläufern und Anastomosen. ANDREJEVIC (1861) benutzte die Verdauung zur Entscheidung der Frage, ob die Gallenkapillaren eine Membrana propria besitzen; er injicirte die Gallengänge mit Berlinerblau-Leim, löste die Leberzellen durch Verdauung und untersuchte dann Stückchen des isolirten blauen Geästes. KRAUS (1879) verwendet unter anderem auch Verdauung in Pepsinlösung als Vorbehandlung zur Isolation der MEISSNER'schen Tastkörperchen. THANHOFFER (1882) unter-

---

* 3% ist auf jeden Fall zu stark und steht vielleicht infolge eines Druckfehlers anstatt 0,3%. SPALTEHOLZ.

suchte die Struktur des Sarkolemms (Fussmuskeln von Hydrophilus piceus) mit der Pepsinverdauung. Entweder gab er in einen Tüllbeutel eingenähte Muskeln in den Magen eines Magenfistelhundes und untersuchte nach mehreren Stunden; oder er verdaute in künstlichem Magensaft im Verdauungsofen oder im Sommer zwischen zwei Uhrgläsern bei Zimmertemperatur und untersuchte nach $^1/_2$—1 Stunde. Er unterscheidet auf Grund dieser Versuche zwei Schichten am Sarkolemm. Bikfalvi (1883) verdaut Organschnitte und zieht frische Gewebe vor, da die Zellen schwerer aufgelöst werden; bei Alkoholpräparaten bleiben meist nur die Kerne übrig. In Chromsäure erhärtete Organe sind in Pepsin unverdaulich. Als Verdauungszeit giebt er $^1/_2$—1 Stunde an. Bei einem Salzsäuregehalt der Pepsinlösung von 0.1% werden im Knorpel die Fibrillen dargestellt; bei 0,5—1% Salzsäuregehalt wird das Bindegewebe gelöst, die Zellen und die Drüsenschläuche werden isolirt, so Knorpel-, Knochen-, Epithel-, Nerven-, Drüsen-, Muskelzellen. Färben mit Pikrokarmin entweder nach dem Verdauen oder vorher. Verdauungsflüssigkeit durch Auswaschen oder Abtupfen entfernt, dann Einlegen in Glycerin. Barnes (1893) benutzte die Pepsinverdauung zur Isolirung der Trichinen. Er bringt ein erbsengrosses Stück eines trichinösen Muskels in ein Glas mit 0,2 Grm. Pepsin, 8 Grm. Wasser und ein Minimum Salzsäure und verdaut es bei Körpertemperatur unter zeitweisem Schütteln bis zum Auflösen (ca. 3 Stunden). Dann giesst er den Inhalt in ein Glas, so dass die Trichinen sich zu Boden setzen, hebt dann unter dem Mikroskop einzelne Thiere heraus, überträgt sie in klares Wasser und untersucht sie auf gewärmtem Objektträger oder legt sie in Glycerin ein. Rausch (1897) giebt an, dass sich das Stratum corneum der menschlichen Fussohlenhaut sehr gut durch 1—2tägige Verdauung mit Pepsinlösung bei Körpertemperatur abmaceriren lässt. Er färbt die Hornzellen alsdann zum Studium ihres Reliefs (Methode siehe bei Artikel: Maceration unter: Wasserstoffsuperoxyd).

B. Maximale Verdauung.

a) Zur Untersuchung der Zellbestandtheile, besonders der Nukleïne. Miescher (1871) isolirt die Kerne der Eiterzellen dadurch, dass er die Zellen nach mehrfacher längerer Behandlung mit warmem Alkohol in angesäuerter Pepsinlösung (aus Schweinemagen) 18—24 Stunden lang bei zweimaligem Wechsel der Lösung verdaut. Die Kerne sind dann ohne eine Spur von Protoplasmaresten, sowie leicht geschrumpft. Zacharias (1881) verdaut mit einem Gemisch von 1 Vol. Glycerinextrakt von Schweinemagen und 3 Vol. 0,2%ige Salzsäure Pflanzenzellen (Tradescantia etc.) und findet bei ihnen, dass ruhende und sich bildende Kerne ebenso wie die rothen Froschblutkörperchen einen auch durch mehrstündige Verdauung bei 40° C. nicht mehr veränderlichen Körper enthalten, welcher dem Miescher'schen Nukleïn zu gleichen scheint. Witkowsky (1882 u. 1883, 2) untersuchte verschiedene Ganglienzellen, normale und pathologische, auf das Vorkommen der Nukleïne; er fand, dass sich verschiedene Zellarten und -individuen verschieden verhalten. Mattirolo und Buscalioni (1890) wenden die Verdauung (Hundepepsin) an, um zu entscheiden, ob die Auskleidung der Intercellularräume von Pflanzen plasmatischer Natur sind oder nicht. Lilienfeld (1892) benutzt zur Untersuchung der Blutplättchen ein klar filtrirtes, mit 10 Ccm. rauchender Salzsäure auf 1 Liter Wasser bereitetes Extrakt aus Schweinemagen, welches er ungefähr alle zwei Tage frisch herstellte. Er verdaut entweder im hängenden Tropfen bei 35—40° C 10 Minuten bis 48 Stunden oder in der feuchten Kammer, eventuell auf dem heizbaren Objekttisch. Frank Schwarz (1892) wendet ein Gemisch von 1 Vol. Pepsinglycerin und 3 Vol. 0,2%iger Salzsäure an, um an frischem oder in Alkohol fixirtem Pflanzen-

gewebe die einzelnen Bestandtheile der Zellkerne, des Cytoplasmas und der Chlorophyllkörner zu untersuchen. HEINE (1896) unterwirft Salamanderspermatozoenköpfe einer Verdauung in Pepsinsalzsäure (erhalten durch Verreiben von frisch abpräparirter Schleimhaut des Schweinemagens mit 0,8%iger Salzsäure) bei 40° C und findet sie nach 1—1½ Stunden völlig ausgelaugt. ZACHARIAS (1896) giebt dagegen an, dass bei den von ihm ausgeführten Verdauungsversuchen das »Kernnukleïn« weder quillt, noch sich löst. Lediglich gewisse Eiweissstoffe gehen in Lösung, können demnach durch dieses Verfahren mikrochemisch vom Kernnukleïn scharf unterschieden werden. In einer späteren Arbeit (1898) erweitert und bestätigt er diese Angaben nach Versuchen mit Lachssperma, Spermatozoen von Triton taeniatus und Epidermiszellen von Arum italicum. Theilweise arbeitete er mit einer Verdauungsflüssigkeit, welche nach der Vorschrift von KLUG (s. pag. 1322) frisch bereitet war und in 100 Ccm. Wasser 1 Ccm. Lösung von 0,01 Pepsin, sowie 5 Ccm. Normalsalzsäure (also im ganzen 0,18 Grm. Salzsäure) enthielt; ihre Wirksamkeit nahm allmählich ab. Theilweise benutzte er ein Gemisch von 1 Vol. Glycerinextrakt vom Schweinemagen und 3 Vol. 0,28%iger Salzsäure. In den Nukleolen findet er kein Nukleïn (im Gegensatz zu anderen, siehe Original). Er führt aus, dass die Pepsinverdauung durchaus nicht als allgemeines Reagens auf Zellkerne betrachtet werden darf; sie ist nur ein Reagens auf bestimmte, in den meisten untersuchten Zellkernen nachgewiesene Substanzen. NEMEC (1900) benutzt Pepsinglycerin (nach den Angaben von ZACHARIAS hergestellt) zu cytologischen Untersuchungen an ruhenden und sich theilenden Pflanzenzellen; er verarbeitet theils frisches, theils fixirtes Material.

b) Zur Untersuchung der Horngebilde der Epidermis und ihrer Abkömmlinge. WALDEYER (1882) benutzte ein nach KÜHNE dargestelltes Pepsinextrakt zur Isolation der letzten Formelemente der Haarrinde. UNNA (1883, 2 u. 1897) hat wiederholt Verdauungsmethoden zur Untersuchung des Verhornungsprocesses angewandt. Er findet, dass bei genügend langer Verdauung der ganze Zelleninhalt der Hornzellen zerstört wird und nur leere Hülsen von horniger Substanz und melonen- oder gurkenähnlicher, langgestreckter Form zurückbleiben. In der zweiten Arbeit (1897) giebt er eine Reihe besonderer Vorschriften: 1. soll man möglichst feine Schnitte machen, und zwar senkrecht zur grössten Fläche der Hornzellen; 2. ist die Temperatur von 40 bis 41° C genau einzuhalten; sinkt sie um 1—3° C, so wird die Verdauung unverhältnissmässig verlangsamt. 3. In Alkohol gehärteter Zellinhalt verdaut sich ebenso gut wie frischer. 4. Vorausgehende Entfettung beschleunigt die Verdauung, ist aber nicht absolut nothwendig. 5. Pepsin-Salzsäure ist für Hornzellen mehr zu empfehlen als Pankreatin oder Papayotin. Die Objekte werden in Alkohol rasch gehärtet, in Celloidin eingebettet und geschnitten. Die Schnitte werden in Aether-Alkohol von Celloidin befreit und kommen durch Alkohol und Wasser in die Verdauungslösung (Wasser 100 Theile, Salzsäure 1 Theil, Pepsin 0,5 Theile). Nach 12 Stunden bis 4 Tagen oder länger spült man die Schnitte mit Wasser ab, trocknet sie gut ausgebreitet am Objektträger an, färbt warm 1 Minute mit polychromer Methylenblaulösung, fixirt mit 1%iger Lösung von rothem Blutlaugensalz, trocknet wieder ab, entfärbt mit salzsaurem Alkohol, hellt in Bergamottöl auf und schliesst in Balsam ein. BEHN (1892) untersucht ebenfalls die Vertheilung des Keratins in den Hornzellen mit 4—10stündiger Verdauung durch Pepsinlösungen (s. vorn) bei 37—40° C, dann wäscht er stark aus und färbt verschiedentlich. GÜNTHER (1895) benutzt eine 2—3tägige Einwirkung eines Pepsin-Salzsäure-Glycerin-Gemisches bei 40° C zur Isolation der Zeilen der inneren Wurzelscheide. Die Haare werden dann kurz abgewaschen und es wird in einem Tropfen Wasser auf dem Objektträger durch leichtes Reiben mit der Nadel

die Wurzelscheide abgelöst und zerzupft. Die angetrockneten Zellen werden mit Hämatoxylin gefärbt. WEIDENREICH (1900) wendet für die Verhornung der menschlichen Oberhaut auch die Pepsinverdauung an und verdaut ganze Stücke oder Schnitte in der von UNNA angegebenen Lösung bei 42° C 12 Stunden bis 8 Tage oder länger. Bei Stückverdauung wäscht er nach einigen Tagen, ehe der Zellverband zu sehr gelockert ist, aus, härtet in Alkohol und schneidet dann. Bei der Schnittverdauung lösen sich trotz sorgfältiger Entfettung der Objektträger die Schnitte los. Dieser Missstand lässt sich meist verhüten, wenn man die Pepsinlösung tropfenweise nach Entfernung des Paraffins auf die Schnitte bringt und die Objektträger wagrecht in einer feuchten Kammer in den Brutofen bringt. Die Schnitte werden schliesslich in Hämalaun oder in HEIDENHAIN'schem Eisenhämatoxylin gefärbt.

c) Zur Darstellung des Neurokeratins und zur Untersuchung anderer Gerüstsubstanzen des Nervensystems. EWALD und KÜHNE (1877, 2) fanden, dass bei Verdauung der markhaltigen Nervenfasern, der grauen Substanz des Rückenmarkes und der Retina ein netzartig angeordnetes Fasergerüst (Neurokeratin) übrig bleibt, welches in Pepsin und Trypsin unverdaulich und in Natronlauge unlöslich ist. PERTIK (1881), welcher mit nach HOPPE-SEYLER's Vorschrift immer frisch bereitetem Magenschleimhaut- oder Pankreasextrakt arbeitete und stets wenigstens 12 Stunden bei Zimmertemperatur verdaute, kam dagegen theilweise zu anderen Befunden über das Neurokeratingerüst. RETZIUS (1881) untersuchte die Stützfasern der Retina mit einer 4—5stündigen Verdauung durch Pepsin (nach EWALD und KÜHNE) bei 38—40° C. Er fand sie blasser und undeutlicher, die übrigen Gewebsbestandtheile jedoch nicht merklich verändert. WITKOWSKY (1883, 1) vergleicht die Verdaulichkeit des in Alkohol gehärteten Gehirns und Rückenmarks vom Erwachsenen und vom Embryo und findet, dass sie mit fortschreitender Markbildung abnimmt. GEDOELST (1887 u. 1889) verdaut zur Darstellung des Neurokeratingerüstes Frosch- uud Kaninchennerven, die in physiologischer Spannung befestigt sind, bei 40° C bis zu 16 Stunden lang in einer Pepsinlösung (Bereitung siehe vorn), fixirt sie dann in einem Gemisch von 10 Theilen 2%igen doppeltchromsauren Kalis und 2 Theilen 1%iger Osmiumsäure und zerzupft dann oder macht mit dem Mikrotom Längsschnitte. JOSEPH (1888) kann die Angabe von EWALD und KÜHNE, dass das Neurokeratingerüst der Verdauung Widerstand leiste, nicht bestätigen; der entfettete Nerv erwies sich ihm keinem Verdauungsgemisch (ohne nähere Angabe, SPALTEHOLZ) gegenüber als widerstandsfähig. KÜHNE und CHITTENDEN (1890) kommen auf Grund erneuter und weiter ausgreifender Versuche zu einer Bestätigung und Erweiterung der Angaben von EWALD und KÜHNE. Ueber die von ihnen benutzten Magensäfte siehe vorn. Sie verdauen Frosch- und Säugethiernerven bei 37—41° C in lose verkorkten Probirgläsern 24 Stunden bis 7 Wochen und mehr und schütteln öfters vorsichtig um. Zum Schluss färben sie eventuell mit DELAFIELD's Hämatoxylin und schliessen dann ein. Sie verdauen entweder vor oder nach der Entfernung des Markes durch Kochen mit Alkohol oder Benzol, sowie durch Aether und wenden folgende Arten der Verdauung an: 1. mit Magensaft, 2. mit Pankreassaft, 3. nach vorhergehendem Kochen der Schnitte in Wasser mit Pankreassaft oder 4. nach vorhergehender Behandlung mit Magensaft oder verdünnter Salzsäure Verdauung mit Pankreassaft. Nerven, welche vor der Entmarkung in Pepsin verdaut sind, werden allmählich in Celloidin übertragen, geschnitten und dann erst kurze Zeit in absoluten Alkohol gehalten, um darauf (zur Entmarkung) in Benzol gekocht zu werden; dann kommen sie in kaltes Benzol, kurze Zeit in absoluten Alkohol, verdünnten Alkohol, Wasser, Glycerin. Durch die Entmarkungsmittel wird bei Säugethieren das Bindegewebe so verändert, dass es auch durch Magen-

saft, selbst nach voraufgehendem Kochen mit Wasser und durch die unter 3 und 4 aufgeführten Arten der Trypsinverdauung nicht völlig zerstört wird.

2. Trypsin (Pankreatin) ist ein Enzym des Pankreassaftes, welches besonders in schwach alkalischer Lösung (am günstigsten in einer 0,2 bis 0,4%igen Sodalösung) wirksam ist, aber auch in neutraler oder ganz schwach saurer (bis 0,05% Salzsäure enthaltender) Lösung seine Verdauungskraft entwickelt. Die Wirkung ist am stärksten bei 37—40° C, sie wird bei Erwärmung der Lösung auf 50° C zerstört, bei Abkühlung auf niedrigere Temperaturen (Zimmerwärme) jedoch nur verlangsamt, nicht vernichtet.

Beim höheren Wirbelthier lösen alkalische Trypsinlösungen Eiweisskörper ohne vorheriges Aufquellen, sowie Nukleïne, Mucin, Leim und elastisches Gewebe; kollagenes Gewebe, retikulirtes Gewebe, Chitin, Hornsubstanz, Fett und Kohlehydrate werden nicht nachweisbar verändert.

Vorausgehende Behandlung der Gewebe mit anderen Flüssigkeiten ändert zum Theil diese Reaktionen.

So verändert die Vorbehandlung der Gewebe mit wässerigen Lösungen von Chromsäuresalzen ($^1/_{30}$%) die Verdaulichkeit der elastischen Fasern nicht, wenn diese Lösungen bis zu 14 Tagen im Dunklen eingewirkt haben und im Dunklen ausgewaschen worden sind, während die Einwirkung im Hellen theilweise oder vollständige Unverdaulichkeit dieser Fasern zur Folge hat (Ewald 1890). 1%ige Chromlösung verändert bei 1—8tätiger Einwirkung auf die Retina (vom Frosch) deren nachfolgende Verdaulichkeit nicht (Retzius 1881). Einlegen in Müller'sche Lösung hat für elastische Fasern (Ewald 1890) auch bei jahrelanger Dauer keinen wesentlichen Einfluss auf die Verdaulichkeit. Die Behandlung mit Osmiumsäurelösungen hebt bei der Retina vom Frosch (Retzius 1881), beim Sarkolemm und verwandten Membranen, sowie bei den Belegzellen des Kaninchenmagens (Chittenden 1879, 2) die Verdaulichkeit auf, setzt sie bei den Pankreaszellen (Chittenden 1879, 2) und bei der Descemetschen Membran (Sasse 1879) herab, erleichtert sie dagegen bei den elastischen Fasern (Ewald 1890) sowie bei der Sehne und dem retikulirten Gewebe (Mall 1891 u. 1892). Fixirung der Nerven in einem Gemisch von 2%igem Kaliumbichromat (10 Theile) und 1%iger Osmiumsäure (2 Theile) macht sie fast ganz unverdaulich (Gedoelst 1887). Das Einlegen der Gewebe in dünne Sublimatlösungen hat keinen Einfluss auf die spätere Verdaulichkeit (Hoehl 1897). Die Vorbehandlung mit Alkohol verlangsamt die Wirkung des Trypsins nach Chittenden (1879, 2) auf den Inhalt der Muskelfaser (und das Sarkolemm), beschleunigt sie nach Ewald (1890) auf elastische Fasern, ändert sie aber sonst nicht qualitativ (Ewald und Kühne 1877, 1), Chittenden (1879, 2), Hoyer (1889), Ewald (1890), Frank Schwarz (1892), Flint (1900). Das im frischen Zustande unverdauliche kollagene Gewebe der Schwanzsehnen der Maus und des Kaninchens wird nach Ewald und Kühne (1877, 1) durch Trypsin stets gelöst, wenn es vorher durch Säuren gequollen oder durch Wasser von 70° C zum Schrumpfen gebracht ist; das gilt jedoch nicht für das Bindegewebe von Säugethiernerven, wenn diese vorher zur Entfernung ihres Myelins mit Alkohol und Benzol gekocht oder mit Aether behandelt sind (Kühne und Chittenden 1890). Das kollagene Gewebe des Lig. nuchae vom Ochsen wird dagegen nach Ewald (1890, pag. 14) auch durch eine 24stündige Behandlung mit 0,2%iger Salzsäure nicht verdaulich für eine 24stündige Trypsinwirkung, und Mall (1891 u. 1892) giebt ganz allgemein an, dass Sehne und retikulirtes Gewebe auch durch längere Behandlung mit ½%iger Salzsäure (20 Stunden) oder Essigsäure (4 Monate) bei nachfolgendem Auswaschen in fliessendem Wasser (24 Stunden lang) ihr Verhalten gegen Trypsin nicht ändern. Nach Chittenden (1879, 2) und Ewald (1890) werden Bindegewebsfasern in Trypsin auch dann verdaulich, wenn sie zuerst in Osmiumsäure behandelt und dann in Wasser gekocht worden sind.

Die Gewebe verschiedener Thierspecies verhalten sich gegen Trypsin theilweise verschieden.

Die Angaben weichen jedoch zum Theil von einander ab; während Ewald (1890) fand, dass frische Sehnenfasern vom Frosch viel leichter verdaulich sind als Sehnen von der Maus, und dass sie durch 24stündige Behandlung zerstört werden, sah Mall (1891 u. 1892) an Froschsehnen auch bei 3tägiger Einwirkung von Pankreatinlösung keine Verdauung eintreten. Ueber die Unterschiede, welche nach Säurebehandlung zwischen dem Bindegewebe der Maus und des Kaninchens (Ewald und Kühne 1877, 1), sowie demjenigen des Ochsen (Ewald 1890) auftreten, siehe oben. Von Myxine glutinosa L. berichtet Maas (1899) ein durchaus abweichendes Verhalten, insofern als 24stündige Trypsineinwirkung bei 4—8° C alle zelligen Bestandtheile zerstört und nur das Bindegewebsgerüst übrig lässt, während umgekehrt eine 2stündige Einwirkung bei 37—42° C alle bindegewebigen Bestandtheile löst, alle zelligen dagegen noch erhalten zeigt (letztere werden nach 4—5 Stunden ebenfalls gelöst).

An Pflanzenzellen hat besonders FRANK SCHWARZ (1892) die Einwirkung des Trypsins auf die einzelnen Bestandtheile des Protoplasmas und des Kernes studirt.

Die Trypsinlösungen mussten früher besonders nach v. WITTICH's (1869) oder KÜHNE's (1878, siehe unten) Vorschriften selbst dargestellt werden. Jetzt benutzt man wohl meistens die käuflichen, Pancreatinum siccum oder ähnlich benannten Präparate, welche je nach der Herkunft und Darstellungsweise (siehe Einleitung) von verschiedener Wirksamkeit sind; sie sind am vortheilhaftesten im Exsiccator über Schwefelsäure aufzubewahren.

Es empfiehlt sich auf jeden Fall, die Wirksamkeit der zu verwendenden Trypsinlösung durch eine Probeverdauung festzustellen. Man benutzt dazu am bequemsten ungekochtes Rinderfibrin (siehe darüber bei Pepsin). Eine Flocke desselben soll von einer gut wirkenden Trypsinlösung bei 37—40° C in kurzer Zeit ohne Fäulnisserscheinungen gelöst werden.

Um Fäulnisserscheinungen vollständig auszuschliessen, muss man besondere Sorgfalt auf sterile Instrumente und Gefässe legen und der Trypsinlösung während der Verdauung etwas Thymol, Chloroform, Toluol oder Aether zusetzen.

Die Trypsinverdauung ist zwar bereits von LECONTE und FAIVRE (1857) benutzt worden, scheint aber dann erst wieder durch W. KÜHNE (1877) und seine Schüler für histologische Zwecke Anwendung gefunden zu haben.

Sie hat hauptsächlich gedient zur Erforschung der Bindesubstanzen, Glashäute, Membranae propriae, des Sarkolemms und ähnlicher Gebilde sowohl in ihrer mikrochemischen Zusammensetzung und in ihrer Anordnung, als auch in ihren Beziehungen zu anderen Gewebselementen.

Methoden: *a)* W. KÜHNE (1878) empfiehlt einen Alkohol-Aether-Auszug aus Rinderpankreas, welcher getrocknet unbegrenzt haltbar ist. 1 Gewichtstheil desselben wird mit 5—10 Theilen einer Salicylsäurelösung von 1 auf 1000 Wasser 3—4 Stunden lang bei 40° C erhalten, warm durch Leinwand und dann nach dem Erkalten durch Papier filtrirt. Eine neutrale oder alkalische Lösung ist erst aus dieser sauren herzustellen. Er verdaute dünne Schnitte oder Schichten frischen oder mit Alkohol vorbehandelten Gewebes entweder im Probierglas oder auf dem Objektträger in einer feuchten Kammer bei 37—40° C auf dem Wasserbade und betrachtete die Stücke dann ungefärbt unter dem Mikroskop. EWALD und KÜHNE (1877, 1 u. 1877, 2) isolirten mit dieser Methode aus Sehnen, Milz, Lymphdrüsen, Cornea, Knorpel, Leber und Muskeln die unverdaulichen parallel oder netzförmig angeordneten Bindegewebsfibrillen, fanden dagegen die elastischen Fasern leicht verdaulich. Die Epithelialgewebe sind leicht löslich bis auf die verhornten Theile; letzteren steht nahe das auch in Pepsin unverdauliche »Neurokeratingerüst« der nervösen Organe. Sogenannte strukturlose Membranen (DESCEMET'sche Membran, Membrana propria des Pankreas, Linsenkapsel, Sarkolemm) werden leicht gelöst. Mit der gleichen Methode prüfte dann FRORIEP (1878) die Angaben über das Sarkolemm, gelangte aber zu entgegengesetzten Resultaten. CHITTENDEN (1879, 2) wiederholte und erweiterte darauf auf Veranlassung KÜHNE's die Untersuchungen über das Sarkolemm, die Membranae propriae und Glashäute. Er arbeitete nur mit neutraler oder alkalischer (0,3% Soda enthaltender) Trypsinlösung und setzte 1% Thymol in alkoholischer Lösung zu. Die Wirksamkeit des Saftes war verschieden je nach dem verwendeten Trockenpankreas; am schlechtesten wirkte ein Präparat, bei dessen Darstellung die zerriebenen Drüsen nicht sofort in sehr bedeutende Mengen Alkohol gebracht waren. 1 Kgrm. Drüsenbrei soll erst in 12, dann zur zweiten Extraktion in 8 Liter absoluten Alkohol gebracht werden. Er bestätigte dabei die Angaben von EWALD und KÜHNE (siehe dagegen HOEHL 1898) und prüfte die Einwirkung verschiedener Vorbehandlung (siehe vorn) auf die Verdaulich-

keit. SASSE (1879) untersuchte mit denselben Methoden von neuem die DESCEMET'sche Membran vom Frosch, Kaninchen, Schwein und Rind. Er fand sie frisch und nach Alkoholbehandlung leicht verdaulich, viel schwerer oft nach Kochen in Wasser; wurden ganze Hornhäute gekocht und dann verdaut, so blieb als unlöslicher Rest der DESCEMET'schen Membran ein dünnes Häutchen übrig. Für Untersuchungen an den Retinastäbchen und -zapfen benutzten die Trypsinverdauung CHITTENDEN (1879, 1) und AYRES (1879).

Zum Studium der Grundsubstanz des hyalinen Knorpels wandte TILLMANNS (1877) die im wesentlichen gleiche Methode an; er verdaute feine Schnitte in neutraler oder leicht alkalischer Lösung 20—24 Stunden lang, behandelte sie dann eventuell noch 1—6 Tage lang mit 10%iger Kochsalzlösung und untersuchte sie ungefärbt oder nach Färbung in Karmin, Hämatoxylin oder Pikrokarmin. KOLSTER (1887) untersuchte später mit dem gleichen Verfahren den Netzknorpel (Ohrknorpel vom Kaninchen); er musste die Schnitte bis zu 6 und mehr Tagen bei 40° C verdauen, um die elastischen Fasern zum Verschwinden zu bringen; dann eventuell Nachbehandlung mit Barytwasser, 10%iger Kochsalzlösung und chromsaurer Ammoniaklösung. Er zog ungefärbte Präparate vor und legte sie in essigsaures Kali ein. MORAWITZ (1902, pag. 78) findet, dass an dünnen Schnitten vom Rippenknorpel älterer Leute die Chondrinballen auch durch künstlichen Pankreassaft (Pankreatin MERCK) herausgelöst werden.

Zur Untersuchung der Grundsubstanz des Knochengewebes (Darstellung der Grenzscheiden der Knochenkanälchen) verdaut DE BURGH BIRCH (1879) Knochenschnitte, welche in 1%iger Chromsäure mit Zusatz von Salpetersäure entkalkt, in Alkohol nachgehärtet, 24 Stunden in Gummilösung eingelegt und mit dem Gefriermikrotom geschnitten worden sind, in einem Gemisch von 1 Kcm. Glycerinextrakt des Hundepankreas (nach v. WITTICH bereitet) und 19 Kcm. 1%iger Lösung von doppeltkohlensaurem Natron. SMITH (1883) verdaute entkalkte Knochenschnitte mit Trypsinlösung (nach KÜHNE's Vorschrift) zur Entscheidung der Frage nach dem Vorkommen von Keratin in diesem Gewebe und führte zugleich Kontrolverdauungen an Haaren und Epidermis aus. ORTH (1888) empfiehlt zur Demonstration der fibrillären Struktur der Knochengrundsubstanz Schnitte des mit v. EBNER's salzsäurehaltiger Kochsalzlösung entkalkten Knochens nach dem Auswaschen noch einige Tage mit KÜHNE's salicylsäurehaltiger Trypsinlösung bei 37° C zu verdauen, dann mit Wasser auszuschütteln und in Wasser zu untersuchen. Ebenso räth er die Trypsinverdauung an für die Darstellung der Fibrillen in der Grundsubstanz des hyalinen Knorpels.

Zur Untersuchung der Struktur der elastischen Fasern des Lig. nuchae vom Ochsen und Kalb bediente sich PFEUFFER (1879) ebenfalls einer nach KÜHNE's Vorschrift hergestellten salicylsauren Trypsinlösung, welche aber nicht ganz so energisch wirkte, wie nach KÜHNE's Angaben zu erwarten war. Er verdaute theils kalt, theils warm und verglich auch damit die Wirkung auf Elastin. Die Anwendung alkalischer Lösung ergab eine bedeutende Beschleunigung der Auflösungserscheinungen. EWALD (1890) wiederholte und erweiterte diese Untersuchungen auf breitester Basis. Die Trypsinlösungen stellt er nach KÜHNE's Vorschrift dar und machte dabei (pag. 5) auch genaue Angaben über die von KÜHNE ausgearbeitete Darstellungsmethode des Trockenpankreas.

Es wird möglichst frisches Rinderpankreas von anhaftendem Fett und Bindegewebe gereinigt, dann mit der Fleischhackmaschine zerkleinert und der erhaltene Brei gewogen. Darauf werden dreimal soviel Kubikcentimeter absoluten Alkohols zugesetzt, als der Brei Gramm wiegt, und diese ganze Masse bleibt 8 Tage stehen unter täglichem mehrfachen Umrühren. Dann wird der Alkohol durch Leinwand möglichst abgepresst; die fest zusammenbackende Masse wird fein zerpflückt und nochmals in absoluten Alkohol, den dritten Theil der zuerst angewendeten Menge, gebracht und darin unter wiederholtem Umrühren 4 Tage

stehen gelassen. Darauf wird der Alkohol wieder abgepresst, die Masse wieder zertheilt und nun für 2 Tage in Aether gebracht, und zwar so, dass auf je 1 Kgrm. des ursprünglichen frischen Pankreasbreies 1 Liter Aether kommt. Alsdann wird der Aether durch Abgiessen und Auspressen entfernt und das Präparat in einen Aetherextraktionsapparat mit Rückflusskühler übertragen, in welchem es noch etwa 12 Stunden durch fortwährend frisch abdestillirten Aether extrahirt wird. Das nach dem Abdunsten erhaltene Trockenpankreaspräparat dient zur Herstellung des künstlichen Saftes (s. oben) und kann beliebig lange aufbewahrt werden, ohne seine verdauenden Eigenschaften einzubüssen. Für die Verdauung müssen die Gläser sterilisirt und die zu verwendenden Instrumente sorgfältig gereinigt werden; dann tritt auch bei tagelanger Verdauung fast niemals störende Bakterienentwicklung auf. Ausserdem empfiehlt sich der Zusatz eines Stückes Thymol (nicht der Lösung) zur Verdauungsflüssigkeit. Ferner ist es rathsam, die Trypsinlösung vor dem Gebrauche erst einige Tage (mit von Thymol durchtränktem Fliesspapier bedeckt) stehen zu lassen; es scheiden sich dann immer grössere Mengen von Tyrosin aus, welche sonst die Präparate mit einem so dichten Filz von Krystallen überziehen können, dass die Beobachtung gestört wird.

Die Lösung wird erst kurz vor dem Gebrauch mit kohlensaurem Natron schwach alkalisch gemacht; sie verdaut eine vorher auf 40° C erwärmte Flocke nicht gekochten Fibrins in 3 Minuten bis auf Spuren. Ewald verdaut bei 40° C oder bei Zimmertemperatur, manchmal auch beide Arten nacheinander. Die alkalische Lösung wirkt schneller als die neutrale, diese wieder schneller als die saure; bei stärkerem Alkaligehalt nimmt die Wirkung wieder ab. Ueber die beobachtete Einwirkung verschiedener Reagentien u. s. w. auf die Verdaulichkeit siehe vorn.

Die Angaben von Ewald und Kühne (1877) über die Unverdaulichkeit des Neurokeratingerüstes veranlassten mehrere Nachuntersuchungen mit im Wesentlichen gleichen Methoden durch Pertik (1881), Retzius (1881), Gedoelst (1887); letzterer Autor benutzte ein nach der Methode von Waldstein und Weber (1882) aus Schweinepankreas hergestelltes Präparat, verdaute Froschnerven in neutraler Lösung bei 40° C bis zu 16 Stunden und fixirte sie nachträglich in einem Gemisch von 2%igem doppeltchromsauren Kali (10 Theilen) und 1%iger Osmiumsäure (1 Theil). Kühne wandte dann in einer späteren Arbeit (Kühne und Chittenden 1890) zu einer erneuten Untersuchung des Neurokeratingerüstes wiederholt die Trypsinverdauung an. Auch Joseph (1888) und Koelliker (1893) bedienten sich dieser Methoden für den gleichen Zweck, kamen aber theilweise zu anderen Resultaten als Ewald und Kühne.

Zur Darstellung des Keratins in den Zellen der Epidermis benutzte Unna (1897) ebenfalls Trypsin, fand es aber für diesen Zweck nicht so geeignet wie die Pepsinsalzsäure.

Frank Schwarz (1892) bediente sich bei seinen Untersuchungen an Pflanzenzellen über die Zusammensetzung des Protoplasmas und des Kernes ebenfalls der nach Kühne's Vorschrift bereiteten salicylsauren Trypsinlösung.

b) P. Schiefferdecker (1886) benutzt die Trypsinwirkung zur Isolirung von Epithelzellen. Er sättigt einige Cubikcentimeter destillirten Wassers mit »Pancreatinum siccum von Dr. Witte in Rostock i. M.«, filtrirt und lässt in dieser Lösung Stücke frischer Haut bei Körpertemperatur oder etwas niedriger Wärme 3—4 Stunden lang verdauen. Dann lassen sich Epidermiszellen leicht abschaben und vollständig von einander isoliren; die Kerne sind deutlich erkennbar, die Stacheln der Stachelzellen sehr schön erhalten. Rausch (1897) empfiehlt zur Isolirung der Hornzellen der menschlichen Epidermis (Fussohle) ebenfalls Pankreatin; Trypsin (welcher Unterschied? Spalteholz) sei nicht gut zu gebrauchen. Das Relief der Hornzellen ist nach Pankreatinverdauung (nicht nach Trypsin!?) sehr gut erhalten. Ueber die Färbung der isolirten Zellen siehe bei: Macerationsmethoden unter: Wasserstoffsuperoxyd.

c) H. Hoyer (1889) verdaut in schwach alkalischer Trypsinlösung Gefriermikrotomschnitte frischer Mesenterialdrüsen vom Hund mindestens 24 Stunden

lang, oder 0,01—0,02 Mm. dicke Schnitte von Lymphdrüsen, die in Alkohol gehärtet waren, bis zur Isolation des Retikulums (ca. 1/2 Stunde lang) auf Objektträgern bei Zimmertemperatur. Die Schnitte werden dann vorsichtig mit Wasser gereinigt, auf dem Objektträger angetrocknet, in einer wässerigen Hämatoxylinlösung gefärbt, wieder getrocknet und so aufgehoben.

d) Mall's (1891 u. 1892) Methode schliesst sich unmittelbar an die vorige an. Er benutzt Pankreatintrockenpräparate des Handels und versetzt sie stets mit dem Zweifachen ihres Gewichtes von doppeltkohlensaurem Natron und etwa mit der 10—20fachen Menge Wasser. In dieser Lösung lässt er Gefriermikrotomschnitte frischer Organe bei 37° C verdauen, schüttelt sie dann in einem Probirglas mit Wasser aus, breitet sie auf einem Objektträger aus und lässt sie auf ihm eintrocknen. Dann befeuchtet er sie mit einem Tropfen einer Lösung, welche 10 Grm. Pikrinsäure, 150 Ccm. absoluten Alkohols und 300 Ccm. Wasser enthält, und lässt wiederum trocknen. Darauf bedeckt er den Schnitt mit einigen Tropfen folgender Lösung: Säurefuchsin 10 Grm., absoluter Alkohol 30 Ccm. und Wasser 66 Ccm. und lässt ihn etwa 1/2 Stunde stehen. Dann wird die überschüssige Fuchsinlösung abgegossen, der Objektträger für kurze Zeit in die erwähnte Pikrinsäurelösung zurückgebracht und darauf in absoluten Alkohol übertragen. Schliesslich Xylol, Kanadabalsam. Mall untersuchte mit dieser Methode das elastische, kollagene und retikulirte Gewebe und studirte die Vertheilung der letzten beiden in den verschiedenen Organen, zuletzt in einer besonderen Arbeit in der Milz (1900).

e) Spalteholz (1897) verwendet im Gegensatz zu Mall nur sorgfältig fixirtes Material. Als Fixirungsmittel dient besonders Alkohol von steigender Koncentration (von 50% ab), oder (nach Hoehl) eine Mischung von 100 Theilen 33%igen Alkohols und 1 Theil gesättigter Sublimatlösung, in welcher die Gewebe bis 24 Stunden verbleiben können und aus welcher sie für je 24 Stunden in Alkohol von 50, 60, 70, 80, 90, 96 und 100% gebracht werden. Anfangs verdaute Spalteholz grössere Organstücke im ganzen, welche erst nach der Verdauung in Paraffin eingebettet, geschnitten und gefärbt wurden, veranlasste dann aber Hoehl (1897), Versuche über Verdauung der auf dem Objektträger aufgeklebten Schnitte zu machen und ein entsprechendes Verfahren auszuarbeiten. Diese Methode der »Schnittverdauung« hat der »Stückverdauung« gegenüber Nachtheile und Vortheile (über beide Methoden siehe besonders Hoehl 1897, pag. 136 und Spalteholz 1897, pag. 376). Die »Stückverdauung« gestattet dicke Schnitte zu machen, in welchen Membranen u. dergl. auf grössere Strecken sichtbar sind, während man bei der »Schnittverdauung« wohl kaum über eine Schnittdicke von 10 μ hinausgehen kann, da sonst bei der Verdauung und beim Auswaschen leicht Theile des lockeren Netzwerkes fortgespült werden; letzteres ist aber bei der Stückverdauung wenigstens im Innern des Organes fast ausgeschlossen. Andererseits verlieren zwar gut fixirte Präparate, welche im Stück verdaut sind, weniger leicht die Form und zeigen im Innern keine solche Verlagerung ihrer Elemente, wie frisch verdaute Gewebe, aber lassen doch bisweilen die Orientirung schwierig oder unmöglich erscheinen. Bei Anwendung der »Schnittverdauung« dagegen ist die Orientirung viel sicherer möglich, da man an demselben Organstück, an Schnitten desselben Paraffinblockes noch andere Methoden zur Anwendung bringen kann; von Parallelserien (je eine aus jedem zweiten Schnitt) kann man die eine verdauen und die andere zu Kontrollfärbungen verschiedener Art benutzen (Clark 1898, pag. 105). Die Nothwendigkeit, für exakte Resultate die Präparate vor der Verdauung sorgfältig entfetten zu müssen, bedingt einen weiteren Nachtheil der Stückverdauung, da bei dieser die Organstücke tage- oder wochenlang im Soxhlet-schen Apparat mit Aether extrahirt werden müssen.

Für die Stückverdauung werden Organstücke längere Zeit mit Aether entfettet (siehe vorher), alsdann ein oder mehrere Tage in Pankreatinlösung (siehe unten) verdaut und in fliessendem Wasser ausgewaschen; das Verfahren muss bei sehr fetthaltigen Organen ein- oder mehrfach wiederholt werden. Einbettung in Paraffin.

Für die Schnittverdauung werden Paraffinschnitte nicht über 10 μ, am besten nur 6 μ dick mit sterilisirtem destillirten Wasser auf den sorgfältig vollkommen fettfrei gemachten Objektträger gebracht und nach Absaugung des überschüssigen Wassers auf mehrere Stunden in den auf 37° C temperirten Thermostaten gebracht. Dann wird das Paraffin durch Xylol aufgelöst und letzteres durch absoluten Alkohol ausgewaschen. Nun kommen die Objektträger in ein gut schliessendes Gefäss mit Benzin (vielleicht ist statt dessen Chloroform vorzuziehen, welches absolut nicht feuergefährlich ist, doch fehlen vorläufig Erfahrungen darüber) und werden hier je nach dem Fettgehalt des Organes 24—72 Stunden bei einer Temperatur von ca. 37° C belassen. Nach dieser Zeit werden die Präparate erst in absoluten, dann in 90%igen, dann in 70%igen Alkohol und dann für 10—20 Minuten in fliessendes Wasser gebracht. Darauf werden sie in eine 0,3%ige wässerige Sodalösung, welcher auf je ungefähr 100 Ccm. eine Messerspitze Trockenpankreatins (zu empfehlen ist: Pancreatinum siccum depuratum von Dr. G. Grübler, Dresden-Plauen) zugesetzt ist, übertragen und bleiben hier bei einer Temperatur von 24—37° C 10—24 Stunden oder länger. Um Fäulnisskeime möglichst fern zu halten, sterilisirt man die zu verwendenden Gefässe und Instrumente und fügt der Verdauungsflüssigkeit einige Cubikcentimeter Chloroform zu. Nach der Verdauung werden die Präparate 10 bis 20 Minuten vorsichtig in fliessendem Wasser ausgewaschen, dann nach M. Heidenhain in Eisenoxydammonsulfat gebeizt und mit Hämatoxylin gefärbt und (ohne weitere Differenzirung) in der üblichen Weise in Balsam eingeschlossen.

In einem solchen Präparate bleiben ausser keratin- oder neurokeratinhaltigen Gewebselementen nur die kollagenen und retikulirten Fasern übrig; für diese ist die Trypsinverdauung eine sichere chemische Reaktion.

Die Präparate erfordern besondere Vorsicht, wenn man Objektive mit geringem freien Objektabstand benutzt, da sie durch Druck auf das Deckglas leicht theilweise zerstört werden können.

Spalteholz (1897), sowie Hoehl (1897, 1898 und 1900), Ruehle (1897), Clark (1898) und Walker (1899) benutzten diese Methode für die Untersuchung der feineren Anordnung der Bindegewebsfasern und ihrer Beziehungen zu den Bindegewebs-, Muskel- und Epithelzellen in verschiedenen Organen. Henneberg (1900) bediente sich der Methode zum Studium des Bindegewebes der glatten Muskulatur, Dimitrova (1901) für das Bindegewebe des Corpus pineale. Die Methoden von Mall und von Spalteholz wendeten vergleichsweise an für die Untersuchung der Nebenniere Flint (1900) und für diejenige der menschlichen Milz Kyes (1902). Maas (1899) benutzte neben anderen Methoden auch die Trypsinverdauung zu Untersuchungen über die Anordnung und das mikrochemische Verhalten des Bindegewebes im Darm von Myxine glutinosa L. (s. pag. 1328).

f) Flint (1902 u. 1903) hat auf Anregung von Spalteholz die Methode der »Stückverdauung« wieder aufgenommen und weiter ausgebildet, um an dickeren Stücken und Schnitten die räumlichen Verhältnisse des Bindegewebes studiren, sowie Fasern und Membranen auf längere Strecken verfolgen zu können. Dies gelingt dann sehr gut mit dem stereoskopischen Mikroskop bei durchfallendem oder auffallendem Licht. Er verwendet ebenfalls nur fixirtes Material und bevorzugt dabei van Gehuchten's Gemisch (Eisessig 10, Chloroform 30, absoluter Alkohol 60 Theile), da dies die nachfolgende Ent-

fettung erleichtert. Formalin, Chromsäure und ihre Salze, sowie Osmiumsäure sind dazu ungeeignet, da sie die Gewebe unverdaulich machen. Aus dem Organ werden Stücke nicht dicker als 3 Mm. mit parallelen Schnitten herausgeschnitten, in steigendem Alkohol gehärtet, dann in Aether übertragen und in einer Extraktionshülse aus Fliesspapier in einen SOXHLET'schen mit Aether beschickten Extraktionsapparat mit Rückflusskühler gebracht, um in ihm 5—6 Tage fortgesetzt von Fett extrahirt zu werden. Beim Gebrauch des Apparates ist grosse Vorsicht geboten (SPALTEHOLZ), da sich trotz aller Vorsicht leicht Aetherdämpfe entwickeln, oder da der Aetherkolben platzen und eine Entzündung der Aetherdämpfe erfolgen kann, wenn eine Flamme in der Nähe ist. Am sichersten ist es, den Apparat unter einen geschlossenen Abzug zu stellen und die Erwärmung ohne offene Flamme durch cirkulirende Wasserdämpfe oder heisses Wasser oder durch eine elektrische Heizplatte vorzunehmen oder nach FLINT dadurch, dass man eine Glühlampe entsprechender Grösse in einen eng anschliessenden Cylinder aus Asbestpappe bringt und den Aetherkolben darauf setzt. Nach ungefähr einer Woche nimmt man das Gewebe heraus, überträgt es allmählich in Alkohol von sinkender Koncentration, wäscht es dann 24 Stunden in fliessendem Wasser aus und bringt es in die Verdauungslösung (siehe bei *e*), welche alle 48 Stunden erneuert werden muss. Man muss dabei durch Streifen von dickem Papier oder andere geeignete Mittel Sorge dafür tragen, dass die Gewebsstücke weder auf den Boden sinken, noch an der Oberfläche schwimmen. Zur Entfernung des schwer extrahirbaren Fettes muss die Extraktion und die Verdauung mindestens noch einmal, eventuell noch öfter (3—4mal) wiederholt werden. Verschiedene Organe verhalten sich dabei verschieden. Am leichtesten lassen sich Schilddrüse, Milz, Lymphknoten und Lungen verdauen, viel schwieriger Pankreas und Nebennieren. Die Methode ist dabei für normales und pathologisches Gewebe gleich brauchbar. Wenn man sich unter dem Mikroskop davon überzeugt hat, dass die Zellreste verdaut sind, wäscht man das Gewebe in destillirtem Wasser aus und überträgt es in Glycerin. Sind die Stücke untersucht, gezeichnet u. s. w., so können sie entweder in Paraffin eingebettet, in dünne Schnitte zerlegt und in Eisenhämatoxylin, Nigrosin, MALLORY's Gemisch oder Anilinblau gefärbt oder in Celloidin übertragen, in dickere Schnitte zerlegt und mit einer 8%igen Lösung von Säurefuchsin gefärbt werden, welche bei verlängertem Auswaschen in Alkohol das Celloidin farblos erscheinen lässt. Die Methode erfordert eine längere Zeit, mindestens wohl einen Monat, bisweilen ein Vierteljahr.

3. Papayotin (Papain) ist ein dem Trypsin nahestehendes pflanzliches Enzym, welches in verschiedenen Organen, besonders in den Früchten des Melonenbaumes, Carica papaya, enthalten ist und welches bei alkalischer Reaktion schneller als bei neutraler Eiweissstoffe verdaut. (Genaueres siehe: EMMERLING, Berichte d. deutschen chemischen Ges., 35. Jahrg., 1902, Bd. 1, pag. 695.)

MALL (1891, pag. 302, 1892, pag. 174) scheint es zuerst angewandt zu haben. Er benutzte ein käufliches Präparat und erwähnt, dass es Pepton und fast eine Reinkultur grosser Bacillen enthielt. In alkalischer Lösung wirkt Papayotin auf Bindegewebe sehr ähnlich wie Trypsin, es verdaut in 1—3 Tagen die elastischen Fasern, löst aber nicht kollagenes oder retikulirtes Gewebe. Sterilisirtes Papayotin verdaut gar nicht. Die isolirten Bacillen verdauen ebenfalls sehr kräftig, aber nicht so kräftig wie das Papayotin. MALL schreibt deshalb die verdauende Wirkung des Papayotin nicht den Bacillen allein zu. Vorbehandlung mit Essigsäure beschleunigt die Verdauung, vorhergehende Sterilisirung der Gewebe verzögert sie. UNNA (1897) versucht zur Darstellung des Keratins in den Zellen der menschlichen Epidermis ebenfalls Papayotin, fand es aber weniger geeignet als Pepsin-Salzsäure.

RAUSCH (1897) lobt Papayotin als ein sehr gutes Mittel, um die Hornzellen der menschlichen Epidermis (Fussohle) zu isoliren und um ihr Relief

darzustellen. Ueber Färbung derselben siehe bei: Macerationsmethoden unter: Wasserstoffsuperoxyd.

4. Bromelin ist ein Enzym, welches im Saft der Ananas enthalten ist. Es ist nach Mall (1892, pag. 174, Anm.) sehr kräftig und wirkt auf Bindegewebe ebenso wie Pepsin.

5. Bakterielle Enzyme sind je nach der Herkunft von sehr verschiedener Wirkung.

Mall (1891, pag. 303, 1892, pag. 175) untersuchte die Wirkung einer grösseren Anzahl von Bakterien auf sterile Stücke von Sehne, retikulirtem Gewebe und elastischem Gewebe und fand eine grosse Reihe der Bakterien unwirksam. Einige von ihnen (z. B. Bacillus pyocyanens, Spirillum Finkler & Prior) zerstörten dagegen das elastische Gewebe nach verschieden langer Zeit. Genaueres im Original.

Hierher gehört vielleicht auch die Wirkung der Fäulniss. Schwalbe (1876, pag. 250) untersuchte den Einfluss der Fäulniss auf die elastischen Fasern des Ligamentum nuchae. Ewald (1890, pag. 23) macht ebenfalls Angaben über die Wirkung der Fäulniss auf Bindegewebe. Bei starker Fäulniss und Bakterienentwicklung zeigte sich kollagenes Gewebe in Wasser noch nach 7 Wochen, in $^1/_2{}^0/_0$iger Kochsalzlösung noch nach Monaten, ja selbst Jahren erhalten, während das elastische Gewebe verschwunden war. Mall (1891, pag. 308 und 319, 1892, pag. 179 und 189) studirte ihre Wirkung auf die Bindesubstanzen. Sehnen erhalten sich bei 37° C oder bei Zimmertemperatur Monate, ja selbst Jahre lang, ohne zu zerfallen, wenn das Wasser von Zeit zu Zeit gewechselt wird. Aehnliches gilt vom retikulirten Gewebe. Unter anderen Verhältnissen werden sie ebenso wie das elastische Gewebe zerstört, und zwar in verschieden langer Zeit, je nach der speciellen Versuchsanordnung. Genaures siehe Original.

Litteratur: Andrejevic (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 43, I. Abth., 1861), Ayres (Unters. physiol. Inst. Heidelberg, Bd. 2, 1879), Barnes (Journ. Roy. Micr. Soc., 1893), Beale (Arch. of Med., Bd. 1, 1858), Behn (Arch. mikr. Anat., Bd. 39, 1892), Bikfalvi (Cent. med. Wiss., 1883), Broesike (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1882), derselbe (ebenda, Bd. 26, 1886), Burg (Veränderungen einiger Gewebe u. Sekrete durch Magensaft. Inaug.-Diss., Greifswald 1876), De Burgh Birch (Centr. med. Wiss., 1879), Chittenden (Unters. physiol. Inst. Heidelberg, Bd. 2, 1879), derselbe (ebenda, Bd. 3, 1879), Clark (Arch. Anat., 1898), Dimitrova (Recherches sur la structure de la glande pinéale chez quelques mammifères. Thèse de doctorat de Nancy 1901 und Névraxe, 1901, Bd. 2), Ewald (Zeit. Biol., Bd. 26, 1890), Ewald u. Kühne (Verh. nat.-med. Ver. Heidelberg. N. F., Bd. 1, 1877), dieselben (ebenda, N. F., Bd. 1, 1877), Flint (Anatom. Anz., Bd. 16, 1899 und John's Hopkins Hosp. Rep., Bd. 9 [Contributions to the Science of Medicine. dedicated to W. H. Welch 1900), Flint (John's Hopkins Hosp. Bull., Bd. 13, 1902), Flint (Arch. Anat., 1903), Froriep (Arch. Anat., 1878), Gaskell (Arb. physiol. Anst. Leipzig, 11. Jahrgang, 1876), Gedoelst (Cellule, Bd. 3, 1887), derselbe (ebenda, Bd. 5, 1889), Günther (Haarknopf und innere Wurzelscheide des Säugethierhaares. Inaug.-Diss., Berlin 1895), Heine (Zeit. physiol. Chemie, Bd. 21, 1896), Henneberg (Anat. Hefte, Bd. 14, 1900), Hoehl (Arch. Anat., 1897), derselbe (Anat. Anzeiger, Bd. 14, 1898), derselbe (ebenda, Bd. 17, 1900), Hoyer (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1889), Joseph (Sitz. Ak. Wiss., Berlin 1888, 2. Halbband.), Klug (Pflüger's Arch., Bd. 60, 1895), Koelliker (Handbuch der Gewebelehre. 6. Auflage, Bd. 2, 1893, S. 19), Kolster (Arch. mikr. Anat., Bd. 29, 1887), Kraus (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 78, 3. Abtheilung, 1879), Kühne (Untersuchung physiol. Inst. Heidelberg, Bd. 1, 1878), Kühne und Chittenden (Zeit. Biol., Bd. 26, 1890), Kuskow (Arch. mikr. Anat., Bd. 30, 1887), Kyes (Amer. Journ. Anat., Bd. 1, 1901), Leconte u. Faivre (Arch. génér. méd., 5. série, Bd. 10, 1857), Lilienfeld (Arch. Physiol., 1892), Maas (Festschr. C. v. Kupffer, 1899), Mall (Abh. Sächs. Ges. Wiss., Bd. 17, 1891), Mall (John's Hopkins Hosp. Rep., Bd. 1, 1892, pag. 171 [Uebersetzung der vorhergehenden Abhandlung mit Zusätzen]), Mall (Zeit. Morph. Anthrop., Bd. 2, 1900), Mattirolo u. Buscalioni (Referat in: Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Miescher (Hoppe-Seyler's medicin.-chemische Untersuchungen, Heft 4, 1871, wieder abgedruckt in: Die histochem. u. physiol. Arbeiten von F. Miescher, 1897, Bd. 2), Morawitz (Arch. mikr. Anat., Bd. 60, 1902), Nemec (Beiträge z. wiss. Botanik, herausg. v. Fünfstück, Bd. 4, 1900), Orth (Cursus der normalen Histologie, 5. Aufl., 1888, pag. 140 u. 162), Pertik (Arch. mikr. Anat., Bd. 19, 1881), Pfeuffer (ebenda, Bd. 16, 1879), Rausch (Mon. prakt. Dermat., Bd. 24, 1897), Retzius (Biol. Unters., Bd. 1, 1881), Rollet (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 24, 1857), derselbe (ebenda, Bd. 30, 1858), Rühle (Arch. Anat., 1897), Sasse (Unters. physiol. Inst. Heidelberg, Bd. 2, 1879), Schiefferdecker (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), Schwarz, Frank (Cohn's Beitr., Bd. 5, 1892), Smith (Zeit. Biol., Bd. 19, 1883), Spalteholz (Arch. Anat., Suppl., 1897), Stirling (Sitz. Sächs. Ges. Wiss., Bd. 27, abgedruckt in: Arb. physiol. Anst. Leipzig, Jahrg. 10. 1875), Thanhoffer (Arch. mikr. Anat, Bd. 21, 1882), Tillmanns (ebenda, Bd. 12, 1876), derselbe (Arch. Anat., 1877), Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 2, 1883), derselbe (Handbuch der spec. Pathologie u. Therapie, herausg. v. Ziemssen, Bd. 14, Leipzig 1883, pag. 32), derselbe (Mon. prakt. Derm., Bd. 24, 1897), Waldeyer (Festg. f. Henle, 1882), Waldstein u. Weber (Arch. physiol., 2. série,

Bd. 10, 1882), Walker (Arch. Anat., 1899), Weidenreich (Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1900), Witkowski (Arch. Psych. Nerv., Bd. 13, 1882), derselbe (ebenda, Bd. 14, 1883, pag. 155), derselbe (ebenda, Bd. 14, 1883, pag. 420), v. Wittich (Pflüger's Arch., Bd. 2, 1869), Zacharias (Bot. Zeit., Jahrg. 39, 1881), derselbe (Ber. deutsch. bot. Ges., Bd. 14, 1896), derselbe (ebenda, Bd. 16, 1898).

W. Spalteholz, Leipzig.

Verholzung siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Verkalkung ist Infiltration (Ablagerung, Einlagerung, Import) von Kalk in ein Gewebe. Petrificatio bedeutet Versteinerung eines Gewebes und erfolgt wenigstens innerhalb des menschlichen Körpers gewöhnlich durch Kalkeinlagerung; insofern entsprechen sich Verkalkung und Petrifikation und können für einander gebraucht werden. Inkrustation, Inkrustirung = Ueberziehen mit einer Kruste, d. h. auf eine Oberfläche schlagen sich aus einer vorübergehenden Flüssigkeit Salze (Kalksalze, aber oft auch andere Salze, z. B. Urate) in fester Form nieder und bilden so eine Kruste. Ossifikation = Bildung von Knochengewebe mit allen seinen Eigenschaften (Knochenkörperchen, kalkhaltiger Intercellularsubstanz etc.); Ossifikation ist also entweder Neubildung von Knochengewebe oder Umwandlung (Metaplasie, Transformation) eines vorher vorhandenen Gewebes in Knochengewebe. Verkalkung dagegen bedingt keine Umwandlung des Gewebes, letzteres wird vielmehr erhalten und zeigt nach künstlicher Entfernung der Kalksalze die frühere Struktur. Verkreidung (Kreide = Calciumkarbonat) bezeichnet die Verkalkung durch kohlensauren Kalk. Die im menschlichen Körper auftretenden Verkalkungen geschehen ausser durch kohlensauren Kalk auch durch phosphorsauren und oxalsauren Kalk (oft sind den Kalksalzen Spuren Magnesiasalze beigemischt). Da jedoch die Unterscheidung dieser Kalksalze erst durch eine chemische Untersuchung bewirkt wird, so ist es wohl statthaft, Verkreidung einfach für Verkalkung zu gebrauchen.

Steine (z. B. Gallensteine, Harnsteine u. a.) werden im menschlichen Körper gebildet, indem in einem freien Raume (Gallenblase, Nierenbecken, Harnblase etc.) aus einer Flüssigkeit eine feste (steinerne) Masse sich ausscheidet, zusammenschiesst (= Concretio, Lithiasis). Aber auch verkalkte Gewebe werden Steine genannt, z. B. Lungensteine = verkalkte käsige Partien der Lunge, Uterussteine = verkalkte Uterusmyome, Venensteine = verkalkte Thromben; Lithopädion = verkalkter Fötus.

Die Anwesenheit von Kalk in einem Gewebe ist makroskopisch erkennbar durch

1. die harte Konsistenz,
2. die gelbweisse Farbe.

Selbst sehr kleine Mengen eingelagerten Kalkes (siehe z. B. Verkalkung der Glomeruli u. a.) sind makroskopisch wahrnehmbar. Jedoch kann es sich auch ereignen, dass erst beim Schneiden im Innern eines konservirten Stückes (z. B. eines alten Lungenherdes) eine verkalkte Stelle angetroffen wird, welche vorher nicht bemerkt wurde.

Der Kalk ist doppeltbrechend, erscheint mikroskopisch stark lichtbrechend, im durchfallenden Licht dunkel, im auffallenden Licht weissglänzend; amorph, fein oder grobkörnig oder schollig oder bandförmig. Verkalkte Gewebe können frisch mit dem Rasirmesser, in einzelnen Fällen auch mit Schere oder Doppelmesser (z. B. Kalkinfarkt der Niere, verkalktes Lungengewebe, verkalkte Ganglienzellen u. s. w.) geschnitten und untersucht werden. Dass es sich wirklich um Kalk handelt, wird durch Zusatz von Säuren (am besten 2⁰/₀ige Salzsäure) erwiesen, letztere lösen, bisweilen recht langsam, den Kalk auf. Kohlensaurer Kalk entwickelt unter der Einwirkung von Säuren Gasblasen, phosphorsaurer Kalk nicht. Zusatz von Schwefelsäure zum Kalk liefert Gypskrystalle.

Kalk färbt sich mit allen alaunhaltigen Farbstoffen, speciell Alaunhämatoxylin, sehr intensiv (vergl. KOSSA, ZIEGLER'S Beiträge, Bd. 29).

Für den Nachweis phosphorsauren Kalkes giebt KOSSA folgende Vorschrift:

Die Präparate werden in Formol, Sublimat oder Alkohol (nicht in MÜLLER'scher Flüssigkeit oder anderen chromhaltigen, kalklösenden Flüssigkeiten) fixirt und werden eingebettet (Paraffin oder Celloidin) oder nicht eingebettet verarbeitet.

Die Schnitte kommen

1. in Silberlösung (1—5⁰/₀ige Lösung von Arg. nitric.) in hellem Tageslicht 30—60 Minuten.

2. Auswaschen in Aq. dest. Entfernung des überschüssigen Silbersalzes durch Eintauchen der Schnitte in eine 5⁰/₀ige Lösung von unterschwefligsaurem Natron.

3. Die Kerne werden mit Alaunkarmin vorgefärbt oder mit Safranin nachgefärbt.

4. Glycerin oder Entwässerung, Balsam.

Der Kalk wird tiefschwarz gefärbt.

Geringste Spuren von Kalk werden nach LEUERT (Fort. Med., Bd. 13) auf folgende Weise erkannt:

1. Färbung (der nicht in Paraffin eingebetteten Objekte) in konc. alkohol. Hämateïnlösung eine Viertelstunde.

2. Auswaschen in Leitungswasser eine Viertelstunde.

3. Färbung in 1⁰/₀iger wässeriger Safraninlösung 5—8 Sekunden.

4. Abspülen in Wasser.

5. Alkohol, Oel, Balsam.

Der Kalk wird tief stahlblau, die Kerne leuchtend roth.

Zum Zwecke feinerer Untersuchung verkalkter Gewebe bedarf es der Fixirung und Entkalkung. Oft bleibt es in den pathologischen Fällen zunächst zweifelhaft, ob Ossifikation oder Petrifikation vorliegt (vgl. sogenannte Osteome des Rückenmarks, Verkalkungen der Arterien und der Herzklappen, Verkalkungen der Pleura und des Perikards u. a. m.); da jedoch bei beiden Zuständen eine Entfernung des Kalkes nöthig wird, so ist die Behandlung die gleiche: das Gewebe wird entkalkt.

Die Methoden zur Entkalkung sind bereits sehr ausführlich in diesem Werke unter »Knochen und Zähne«, pag. 648 mitgetheilt worden, so dass sich eine Wiederholung an dieser Stelle erübrigt. Ebendort (pag. 662) ist die weitere Behandlung entkalkter Objekte angegeben. *Oestreich*, Berlin.

Verkohlte pflanzliche Objekte siehe Schnittpräparate, pflanzliche.

Verschlusslacke siehe Deckglaskitte.

Vesuvin, Syn. für Bismarckbraun.

Vesuvin B, ein dem Bismarckbraun sehr ähnlicher Farbstoff, der statt aus Phenylendiamin aus Toluylendiamin dargestellt wird (Ludwigshafen).

Vert d'Usèbe, Syn. für Aldehydgrün.

Viktoriablau kommt in den Marken B und 4 R in den Handel und ist entweder das Chlorhydrat des Phenyltetra- (B) oder Phenylpentamethyltriamido-α-naphtyldiphenylkarbidrids (4 R) (Ludwigshafen). Es stellt bronzeglänzende Körner oder ein Pulver dar, das in Wasser mit blauvioletter Farbe schwer, in Alkohol leicht löslich ist. In der wässerigen Lösung entsteht auf Zusatz von Salzsäure oder Natronlauge Fällung.

Färbt in saurem Bade.

Das Viktoriablau ist von Lustgarten in die Mikrotechnik eingeführt worden. Er benutzt es in wässeriger oder alkoholischer Lösung zur Färbung der elastischen Fasern an Flemming-Präparaten. Differenziren in Alkohol oder nach Gram. Es ist ein guter Schleimfarbstoff. Kuczynski färbt Darmschnitte mit einer 0,5%igen Lösung in 1%iger Essigsäure. Beim Differenziren mit Alkohol geben alle Gewebsbestandtheile mit Ausnahme des Schleims die Farbe ab. Lee rühmt das Viktoriablau als Kernfarbstoff, er behandelt Hermann-Präparate zuerst 15 Minuten mit Jodtinktur, färbt dann 18 Stunden in konc. wässeriger Lösung von Viktoriablau, dann 10 Minuten mit konc. wässerigem Orange, dann ebenso lange in ½%igem Säurefuchsin, Alkohol, Oel, Balsam.

Litteratur: Lustgarten (Wien. med. Jahrb., 1786), Kuczynski (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 7, 1890), Lee (Cellule, Bd. 11, 1895).

Viktoriagrün, Syn. Neusolidgrün B B, ein dem Malachitgrün nahestehender Triphenylmethanfarbstoff (Ludwigshafen). Metallisch glänzendes, grünes Krystallpulver, in Wasser schwer, in Alkohol leicht mit grüner, in Schwefelsäure mit gelber Farbe löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure gelbgrün, mit Natronlauge rothgelb.

Von Wilcox an Stelle von Lichtgrün zur Doppelfärbung mit Safranin benutzt (siehe Safranin).

Viridin, Syn. für Akaligrün.

Volvocineen siehe Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen.

W.

Wachs. Das aus den Bienenwaben gewonnene Wachs stellt eine gelbe, zähe Masse dar, deren Schmelzpunkt bei 61° liegt. Es enthält ausser zusammengesetzten Aethern. freien Säuren (Cerotin- und Melissinsäure) noch 14% paraffinartige Kohlenwasserstoffe. In Wasser und kaltem Alkohol ist es unlöslich, in kochendem Alkohol, Aether und Benzol theilweise, in Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Terpentinöl völlig löslich. Durch längeres Liegen an der Sonne wird das Wachs gebleicht, weisses Wachs, wobei sich sein Schmelzpunkt ungefähr um 1° erhöht.

In der Mikrotechnik findet es vielfache Anwendung zur Herstellung von Korrosionsmassen, Deckglaskitten, Platten zur plastischen Rekonstruktion, wohl auch als Zusatz zum Paraffin. (Siehe auch Oele, pflanzliche.)

Walrath, Spermaceti, Cetaceum, wird aus dem im Körper vieler Walthiere sich findenden Oele gewonnen und stellt eine weisse, blättrig krystallinische, neutrale Masse dar, welche bei ca. 50° schmilzt. Es ist in Wasser unlöslich, wenig löslich in Alkohol, leicht in Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff. Seinen Hauptbestandtheil bilden zusammengesetzte Aether der Palmitin-, Stearin-, Laurin- und Myristinsäure.

In der Mikrotechnik wird Walrath in seltenen Fällen als Zusatz zum Paraffin und zu Korrosionsmassen benutzt.

Wasserblau, ein wasserlösliches Anilinblau (Elberfeld, Ludwigshafen, Höchst), das wie das Bleu de Lyon und andere Sorten von Anilinblau ein recht guter Protoplasmafarbstoff und als solcher von Mitrophanow empfohlen worden ist. Vor allem aber ist es von Unna in Verbindung mit Safranin und Orceïn zur Färbung des Kollagens und der Epithelfasern benutzt worden. (Näheres siehe Kollagen und Haut.) Bettendorf färbt Sublimatmaterial von Distomum zunächst 10 Minuten in Eosin, spült in Wasser ab und überträgt in eine Lösung von Wasserblau in konc. wässeriger Pikrinsäure 5—15 Minuten, dann Wasser, Alkohol, Xylol, Balsam.

Wasserglas, Natronwasserglas, Natriumsilikat, klare, farblose Flüssigkeit von alkalischer Reaktion, die beim Stehen an der Luft zu einer glasartigen Masse eintrocknet.

In der Mikrotechnik dient das Wasserglas mit Zusatz von chinesischer Tusche oder Kremserweiss zum Schreiben auf Glas (Schöbel), auch ist es in Verbindung mit Glycerin als Einschlussmedium benutzt worden (Exner).

Wasserstoffsuperoxyd, H_2O_2, wird erhalten durch Zerlegen von Baryumsuperoxyd mit Schwefelsäure. In konc. wässeriger Lösung stellt

es eine farb- und geruchlose, sauer reagirende und ätzend wirkende Flüssigkeit dar, die unter —30° erstarrt. Es ist in Alkohol und Aether löslich. Das Wasserstoffsuperoxyd ist ein vorzügliches Oxydationsmittel, es vermag organische Farbstoffe zu bleichen, manche Oxydule in Oxyde, Sulfide in Sulfate zu verwandeln etc. Es kann aber auch umgekehrt reducirend wirken und aus Metalloxyden unter lebhafter Sauerstoffentwicklung das Metall frei machen.

In der Mikrotechnik wird das Wasserstoffsuperoxyd vielfach als Oxydationsmittel zum Bleichen von Pigmenten, zum Entfärben von Osmium- und Chrompräparaten und zur künstlichen Reifung von Farblösungen benutzt.

Weinmost als Nährboden für Hefen und Schimmelpilze siehe Hefe.

Weinsäure, Weinsteinsäure, Rechtsweinsäure, Acidum tartaricum, $C_2H_2(OH)_2\left\{\begin{matrix}CO.OH\\CO.OH\end{matrix}\right.$, aus Weinstein dargestellt, bildet grosse monokline Krystalle, die bei 10° in Wasser zu 125,7%, bei 20° zu 139,4%, in absolutem Alkohol zu 25%, in Aether zu 0,4% löslich sind. Sie schmilzt bei 170° und verwandelt sich dabei in die hygroskopische Metaweinsäure.

Die Weinsäure dient als schwache organische Säure hauptsächlich als Reduktionsmittel bei der Vergoldung, kann aber auch mit Vortheil zum Ansäuern mancher Farblösungen (Ehrlich-Biondi) und zum Differenziren von Hämatoxylinpräparaten Verwendung finden.

Wismuthjodid-Jodkalium. Zur Herstellung dieses empfindlichen Reagens auf Alkaloide löst man 80 Grm. basisches Wismuthnitrat in 200 Ccm. Salpetersäure (spec. Gewicht 1,8) und 272 Grm. Jodkalium in wenig Wasser. Man giesst die erste Lösung langsam und unter Umschütteln in die zweite, wobei sich der entstehende braune Niederschlag zu einer gelben Flüssigkeit löst. Der sich bildende Salpeter wird durch Abkühlen auskrystallisirt und entfernt.

Meyer empfiehlt dieses Reagens zur Fixation von Volvox (12 Stunden).

Litteratur: Meyer (Bot. Zeit. 1896).

Widal'sche Reaktion. Von Gruber und Durham, Pfeiffer und Kolle und Widal wurde zuerst eine eigenthümliche Veränderung des Blutserums an Typhus erkrankter Menschen beobachtet, dergestalt, dass durch dasselbe selbst in starker Verdünnung Typhusbacillen ihrer Beweglichkeit beraubt und zu Haufen zusammengeballt, »agglutinirt« wurden. Die Thatsache wurde 1896 von Widal zur klinischen Diagnose des Typhus verwerthet und findet seitdem allgemeine Anwendung. Denn obschon es sich weiterhin gezeigt hat, dass auch bei Verwendung von Blutserum normaler Menschen die Reaktion eintritt und andererseits auch gewisse andere Bakterien als Typhusbacillen durch Typhusserum agglutinirt werden, so lassen sich, wie nachgewiesen ist, gewisse Grenzwerthe der Serumverdünnung aufstellen, bei denen weder normales Blutserum Typhusbacillen agglutinirt, noch andere Bakterienarten durch Typhusserum agglutinirt werden.

Widal befolgte zur Anstellung der Reaktion folgende Technik: Er entnahm einer Kubitalvene Blut, überliess dasselbe der Gerinnung und setzte das ausgepresste Serum zu frischen Bouillonkulturen von Typhusbacillen in einer Verdünnung von 1 Theil Serum zu 10 Theilen Bouillon zu. Derartige Mischungen klären sich, falls Typhus vorliegt, nach einigen Stunden, d. h. die Typhusbacillen sind agglutinirt und vermöge ihrer Schwere auf den Boden gesunken. Zur Erzielung einer schnelleren Diagnose liess er ferner durch einen Einstich in die Fingerbeere gewonnenes Blut in ein kleines Röhrchen fallen, setzte zu 1 Tropfen des hieraus abgepressten Serums 10 Tropfen einer Bouillonkultur und untersuchte dann im hängen-

den Tropfen. Handelte es sich um Typhusserum, so fand er nach kurzem die meisten Bacillen unbeweglich und zu grossen Häufchen zusammengeballt.

Seitdem sind nun eine Reihe von Verfahren zur Anstellung der Widal'schen Reaktion publicirt worden, welche namentlich auf die praktische Verwerthung des Phänomens am Krankenbett abzielten und die Sicherheit der Reaktion zu erhöhen trachteten.

Im allgemeinen begnügt man sich heute mit der Entnahme geringer Blutmengen aus der Fingerbeere oder aus dem Ohrläppchen, die man in kleinen Röhrchen gerinnen lässt, und setzt dementsprechend auch nur geringe Mengen Serums zu relativ kleinen Mengen Typhusbacillenkultur zu. Nach den Untersuchungen Stern's reichte die ursprünglich von Widal gewählte Verdünnung 1 : 10 zu einer sicheren Diagnose nicht aus. Dieselbe ist erst ermöglicht bei der Prüfung des Serums in einer Verdünnung von 1 : 30 bis 1 : 40. Die Herstellung dieser Verdünnungen geschieht am einfachsten mittels einer der Zeiss'schen Blutzählpipette oder der Gowers'schen Pipette nachgebildeten, entsprechend geaichten Pipette. Die Pipette fasst 0,5 Ccm. und ist mit zwei Theilstrichen versehen, von denen der eine 0,01 Ccm., der zweite 0,02 Ccm. markirt.

Zur Anstellung der Reaktion verwendet man nur junge, 10—18stündige Neutral-Agar-Kulturen, die bei 37° ausgewachsen sind. Von denselben wird durch Begiessen mit steriler Bouillon und leichtem Schütteln (nicht Abstreifen mit der Platinnadel oder Platinöse) eine Aufschwemmung hergestellt. Nun verbindet man die Pipette mittels eines Gummischlauchs mit einem Glasrohr, in welches man zwei kleine Wattebäuschchen eingeführt hat, stellt drei kleine Reagensröhrchen leicht erreichbar vor sich auf, nachdem man Röhrchen I mit der Aufschrift 1 : 25, Röhrchen II mit der Aufschrift 1 : 50 und Röhrchen III mit der Aufschrift Kontrolle versehen hat. Hierauf saugt man von dem zu untersuchenden Serum 0,02, d. h. bis zum zweiten Theilstrich auf, lässt es in Röhrchen I ausfliessen und wiederholt diese Manipulation auch mit Röhrchen II. Sodann reinigt man die Pipette durch gründliches Durchspülen mit steriler Bouillon von Serumresten und füllt dann 0,5 Ccm. der Aufschwemmung in Röhrchen I, zweimal 0,05 in Röhrchen II, wodurch eine Verdünnung des Serums auf 1 : 25 und 1 : 50 erzielt wird. In Röhrchen III schliesslich bringt man 0,05 Ccm. der Aufschwemmung ohne Serumzusatz und stellt nun die drei Röhrchen in den Brutschrank von 37°. Dieselben werden nach Stern's Vorschrift 2 Stunden lang beobachtet. Ist nach dieser Zeit weder makroskopisch noch mikroskopisch eine Veränderung mit den Kulturaufschwemmungen vor sich gegangen, so handelt es sich mit grösster Wahrscheinlichkeit um kein Typhusserum. In positiven Fällen hingegen lässt sich oft schon nach wenigen Minuten im hängenden Tropfen die charakteristische Paralyse und Agglutination der Bacillen erkennen; makroskopisch treten zunächst in der Bouillon Flocken auf, die sich allmählich zum Boden des Gläschens senken und die darüber befindliche Schicht völlig klar werden lassen.

Bei Innehaltung dieser Technik wird zweifellos eine grössere Genauigkeit erzielt als bei Anlegung der Verdünnungen durch Auszählung einer entsprechenden Anzahl Tropfen, die von manchen Autoren empfohlen wurde.

Nachdem schon von Widal, Stern u. a. auch die Verwendung getrockneten Blutes zur Anstellung der Reaktion als möglich bezeichnet wurde, haben Pfuhl und F. Pick auf dem Boden dieser Thatsache einfachere Verfahren als das soeben geschilderte vorgeschlagen. E. Pfuhl macht einen Einstich in das Ohrläppchen des Patienten, tupft das Blut mit einem hohlen Objektträger ab, setzt ungefähr die zehnfache Menge Wasser zu und vermischt beides in dem Hohlschliff vermittels einer ausgeglühten Platinöse,

worauf nach kurzem die rothen Blutkörperchen aus dem mikroskopischen Bilde verschwinden. Das so verdünnte Blut wird nun mit der gleichen Menge Typhusbouillonkultur versetzt, indem eine Platinöse voll verdünnten Blutes auf ein Deckgläschen gebracht, diesem eine gleich grosse Menge Bouillonkultur zufügt und in der üblichen Weise auf einem hohlen Objektträger beobachtet wird. Diese Verdünnungsmethode nun ist nach PFUHL auch für angetrocknetes Blut wohl verwerthbar und kann daher namentlich bei Einsendung von Blutproben in Betracht kommen.

F. PICK fing bei der Blutentnahme 1—3 Tropfen Blut auf einem ca. 3 Cm. breiten Streifen gewöhnlichen, geleimten Papieres auf, liess es dann, vor Verunreinigungen geschützt, fest antrocknen, was nach 24—48 Stunden meist geschehen ist. Auf diesen Blutfleck bringt man nun zur Untersuchung einen Tropfen destillirten Wassers, lässt denselben mehrere Minuten einwirken, mischt ihn dann mit 1—5 Tropfen Typhusbouillonkultur und fertigt von dem Gemisch zur mikroskopischen Untersuchung hängende Tropfen an.

Zur Gewinnung des Serums hat GRÜNBAUM ein einfaches Verfahren vorgeschlagen, das darin besteht, das Blut in Kapillaren aufzufangen und in diesen zu centrifugiren. Er bläst dann, nach GÜNTHER's Bericht, das abgeschiedene Serum aus, verdünnt es in der Kapillarpipette quantitativ genau mit Bouillon, bläst das Gemisch aus und benutzt einen Tropfen davon zur Herstellung des hängenden Tropfens, indem er das Tröpfchen mit einem gleich grossen Tröpfchen sorgfältig hergestellter Aufschwemmung beweglicher Typhusbacillen vermischt.

Ein genaues Eingehen auf den Werth der WIDAL'schen Reaktion für die Diagnostik des Typhus abdominalis liegt nicht im Rahmen dieses Werkes. Es sei nur kurz erwähnt, dass sie nicht vom Beginn der Krankheit an, sondern erst in der 2.—3. Woche auftritt und es daher vorkommen kann, dass gerade ein sehr schwerer, klinisch durchaus sicherer Fall von Typhus zum Exitus kommen kann, noch ehe die Reaktion im Blute zu konstatiren ist.

Benützt man die Reaktion zur Identificirung von Typhusbacillen, so verwendet man das Serum hochgradig immunisirter Thiere, besonders Ziegen. Hier gestattet der positive Ausfall einen zweifellosen Schluss auf die Art der fraglichen Mikroorganismen.

Die WIDAL'sche Reaktion, d. h. die Bildung specifisch wirksamer Stoffe im Blute von entsprechend vorbehandelten Thieren, hat nicht nur bei Typhus, sondern nach GRUBER und DURHAM auch bei Cholera, sowie einigen anderen Vibrionen, bei Bacillus coli, B. pyocyaneus, bei Pest (Deutsche Pestkommission), bei Pneumonie (BESANCON und GRIFFON), bei Febris recurrens (GABRITSCHEWSKY), bei Proteusbacillose (PFAUNDLER), bei Diphtherie (MAX NEISSER und LUBOWSKY) statt.

Litteratur: Siehe in der sehr umfangreichen Zusammenstellung von KÖHLER: Das Agglutinationsphänomen. Klin. Jahr., 1901. *Heymann*, Breslau.

Wollschwarz, Disazofarbstoff, der durch Einwirkung von Amidoazobenzolsulfosäure auf Paratolyl-β-naphthylamin entsteht (Berlin, Ludwigshafen). Blauschwarzes Pulver, in Wasser mit violetter Farbe, in Schwefelsäure mit blauer Farbe löslich. Die wässerige Lösung giebt mit Natronlauge violetten, mit Salzsäure rothvioletten Niederschlag.

Das Wollschwarz wird in wässeriger oder alkoholischer Lösung von LÖFFLER zur Geisselfärbung benutzt. (Näheres siehe Geisselfärbung.)

Würmer.

Turbellarien. Zur Fixation der Turbellarien hat sich, besonders durch die Untersuchungen von LANG angeregt, das Sublimat allein oder in Gemischen den ersten Platz erobert. Er fixirt Planarien in einer 6 bis 10%igen Kochsalzlösung, welche 3—12% Sublimat enthält und der man 6—8% Eisessig und eventuell noch 0,5% Alaun zusetzt. Sie wird von VOGT und YUNG für Mesostomum und von BRAUN für Rhabdocoelen angewendet. Der letztere setzt der Flüssigkeit eventuell auf 3 Theile noch 1 Theil 1%iger

Osmiumsäure zu. Um Verzerrungen zu vermeiden, erwärmt er die Flüssigkeit bis zum Kochen und übergiesst die ausgestreckten Thiere damit. LANG hat dann auch noch ein zweites Fixativ, mit dem er ebenfalls gute Resultate erhielt, so hergestellt, dass er zu Pikrinschwefelsäure 5% Eisessig setzt und in dieser Flüssigkeit Sublimat bis zur Sättigung löst. Reines Sublimat wird empfohlen von BÖHMIG für Plagiostomiden, von LIPPITSCH für Derostomum, von WAGNER für Mikrostomeen, von GRAFF (91) für Convoluta roscoffensis und für Landplanarien, von LO BIANCO für marine Turbellarien. Die beiden letzteren wenden auch das Fixativ heiss an. LO BIANCO giesst die Thiere dann aber sofort in viel kaltes Wasser und überträgt sie in Alkohol. Gerühmt wird für Turbellarien auch die KENNEL'sche Flüssigkeit, eine konc. Lösung von Sublimat in 50%iger Salpetersäure. Man darf dieselbe aber nur einige Minuten einwirken lassen und behandelt dann noch 1/2 Stunde in konc. wässerigen Sublimat nach (WOODWORTH). CHICHKOFF hat für Süsswasserdendrocölen die LANG'sche und KENNEL'sche Lösung kombinirt, er mischt 6 Theile 2%igen Sublimats, 4 Theile 15%iger Essigsäure, 2 Theile Salpetersäure, 8 Theile 14%igen Chlornatriums und 1 Theil 2%igen Alauns. Osmium und seine Gemische erfreuen sich für den vorliegenden Zweck keiner grossen Beliebtheit, sie sollen nach LIPPITSCH die Epithelzellen deformiren, nur GRAFF lobt die FLEMMING'sche Lösung für manche acöle Turbellarien. Pikrinschwefelsäure empfiehlt BÖHMIG, Pikrinessigsäure HOFER zur Anfertigung von Totalpräparaten, Salpetersäure (25%) VOIGT für Planaria, 70%igen Alkohol mit 4% Eisessig KLINKOWSTRÖM für Prostheceraeus. Um die Thiere gut ausgestreckt zu erhalten, kann man sie nach HOFER betäuben, indem man sie für 10—15 Minuten in eine 1/2%ige Lösung von Hydroxylamin setzt, dann zwischen zwei Deckgläsern abplattet und fixirt.

Für die Darstellung des Nervensystems empfiehlt GRAFF die Methode von DELAGE. Fixation in gleichen Theilen einer starken ammoniakalischen Karminlösung und 1%ige Osmiumsäure (Filtriren). Vergoldung nach der LÖWIT-schen Methode. Nach MONTI ergiebt die rasche Golgimethode sehr gute Bilder, besonders des peripheren Nervensystems (4—5 Tage in Osmiumbichromat).

Für das Studium des Auges der Turbellarien fixirt JÄNICHEN 1—2 Stunden in Pikrinschwefelsäure. Durchfärben in Boraxkarmin. Die Schnitte kommen auf dem Wärmeschrank 10 Minuten in Osmiumsäure und dann ebenso lang in Holzessig. Das Pigment wird mit Wasserstoffsuperoxyd gebleicht.

Embryologisches: Um Sperma von Turbellarien zu erhalten, zerquetscht REPIACHOFF die lebenden Thiere, setzt etwas 2%ige Osmiumsäure und nach einigen Sekunden BEALE'sches Karmin zu. Die Eireifung, Befruchtung und Furchung der Turbellarien ist besonders eingehend an den Polykladen studirt worden. Genaue Vorschriften hat VAN DER STRICHT für Thysanozoon gegeben. Die Laichzeit beginnt in Neapel Ende April. Man schneidet die Thiere in Stücke und fixirt diese in toto oder die durch leichten Druck herausgepressten Eier 10 Tage bis mehrere Wochen in Hermann. Im absoluten Alkohol dürfen sie bei einmaligem Wechsel nur 2 Minuten bleiben, sonst werden sie zu hart. Man fügt dem in einer kleinen Portion Alkohol liegenden Eiern tropfenweise Chloroform zu und führt, sobald sie zu Boden sinken, in reines Chloroform über. Aehnliche Bilder erhält man auch bei Leptoplana und Cycloporus. FRANCOTTE fixirt dieselben in Hermann nur so lange, bis die opaken Granula nicht mehr wahrzunehmen sind und wäscht dann im Uhrschälchen in einer Mischung von 90%igem Alkohol 15, Glycerin 15 und Wasser 70 aus. Zur Einbettung empfiehlt sich kombinirte Celloidin-Paraffinmethode. Will man in toto färben, so kann man jenem Gemisch 0,1% Methylgrün oder 0,3% Thionin mit einem Tropfen Essigsäure zusetzen. Auch Farb-

mischungen sind zu empfehlen, z. B. 0,1% Orange, 0,01% Säurefuchsin und 0,01% Methylgrün mit einem Tropfen Essigsäure. Von anderen Polycladen empfiehlt VAN NAME Planocera eustylochus. Er fixirt in konc. Sublimat mit 2% Essigsäure oder 1,5% Salpetersäure oder in konc. Pikrinsäure mit 1% Essigsäure (24 Stunden). Die Eier werden in Aquarien im März und April abgelegt. Wenige Stunden nach der Eiablage wird der erste Richtungskörper ausgestossen, nach 12—15 Stunden setzt die erste Theilung ein. Für die Eier von Süsswasserplanarien empfiehlt IJIMA die Eikapseln in 2%iger Salpetersäure zu eröffnen, die nach ½ Stunde durch 70%igen, dann 95%igen Alkohol und Glycerin ersetzt wird.

Trematoden. Auch für die Fixation der Trematoden wird in weitaus den meisten Fällen Sublimat empfohlen, so von HOFMANN (konc. heiss) für Distomum 5 Minuten, ebenso von LO BIANCO; LOOS fixirt die in der menschlichen Pfortader schmarotzende Bilharzia so, dass er das Blut in dünner Schicht in einer Glasschale mit dunklem Grunde ausbreitet, die Parasiten heraussucht, in physiologischer Kochsalzlösung abspült, auf dem Objektträger mittels Pinsels ausstreckt und mit heisser (50—60°) 1%iger Sublimatlösung in 70%igem Alkohol betropft, WALTER fixirt Monostomen in 5%igem Sublimat mit 2% Eisessig. VOGT und YUNG ziehen für Distomum die LANG'sche Sublimat-Kochsalz-Eisessig-Alaunmischung vor. Für die Kutikula soll sich 0,5%ige Osmiumsäure besser erweisen. Den Darmkanal kann man mit einer in den Saugnapf eingeführten Kapillare injiciren. Zur Sichtbarmachung der Nerven hellt man die Thiere auf, indem man sie bis zu 24 Stunden in eine 20%ige Sodalösung überträgt. BETTENDORF empfiehlt für Nerven- und Sinneszellen die rasche Golgimethode oder die Methylenblaufärbung, die angeschnittenen Thiere werden auf dem Objektträger mit 0,1%iger Methylenblaukochsalzlösung benetzt, sie färben sich manchmal schon nach einer Stunde. Für Paraffinschnitte von Sublimatmaterial ist besonders Doppelfärbung mit Eosin-Wasserblau zu empfehlen. (Näheres siehe bei Wasserblau.) Von anderen Fixativen wird noch benutzt FLEMMING-sche Flüssigkeit von WRIGHT und MACALLUM für Sphyranura, von MÜHLING halb verdünnte Pikrinsalpetersäure mit 2% Eisessig.

Um dem lästigen Verkrümmen der Thiere vorzubeugen, kann man sie während der Fixation zwischen Deckglas und Objektträger leicht komprimiren. Dicyemiden soll man nach VOGT und YUNG in 0,1—1%iger Osmiumsäure fixiren, sorgfältig auswaschen und färben in Glycerin mit 10% Ameisensäure, dem man etwas BEALE'sches Karmin zusetzt. Aufheben in Glycerin-Ameisensäure.

Embryologisches: Die frühesten Embryonalstadien von Distomum gewinnt man, wenn man die ganzen Thiere fixirt und schneidet. Man kann auch die Eier durch Zerzupfen isoliren. Die Eikapsel wird durch 5%ige Kalilauge erweicht und durch Druck gesprengt (HECKERT). GOLDSCHMIDT tödtet die Eier von Polystomum in kochendem Wasser ab und überträgt sie dann in 95%igen Alkohol mit 20% Eisessig. Auch für die Cercarien ist warme (35—40°) konc. Sublimatlösung das beste Fixativ (SCHWARZE).

Cestoden. Zur Totalfixation der oft sehr langen Cestoden bedient man sich am besten einer mit Paraffin ausgegossenen grossen flachen Glasschale. In ihr wird der vorher gut mit physiologischer Kochsalzlösung abgespülte Wurm ausgebreitet, mit Igelstacheln festgesteckt und mit dem Fixativ übergossen. Einer anderen Methode bedient sich KÖHLER, er wickelt den Wurm um eine Glasplatte herum und fixirt ihn dann. Zur Aufbewahrung, resp. zum Transport der aus dem Koth entnommenen und gut mit Kochsalzlösung abgespülten Würmer empfiehlt sich physiologische Kochsalzlösung mit Zusatz von etwas Hühnereiweiss. Wird dieselbe warm gehalten,

so bleiben die Thiere tagelang lebensfähig. LÖNNBERG empfiehlt 3—4%ige Peptonlösung in 0,9%iger Kochsalzlösung. Zur Fixation empfehlen VOGT und YUNG für Taenia schwache Sublimatlösung 5—10 Minuten, KÖHLER 5%iges Sublimat 2—3 Stunden, DE FILIPPI gab Sublimat schlechte Resultate, er zieht koncentrirte wässerige Pikrinsäure (7 Stunden) vor; WILL fixirt Caryophyllaeus in Flemming und reducirt in Holzessig, VOGT und YUNG empfehlen für das Studium der Kutikula Fixation der Taenien in 5%iger Osmiumsäure. KÖHLER hat die in Sublimat fixirten Würmer noch nachträglich osmirt, indem er aus 70%igem Alkohol für 3 Stunden in Wasser und 24 Stunden in 0,25%ige Osmiumsäure überträgt, 2 Stunden auswäscht und mit Holzessig nachbehandelt.

Zur Weiterbearbeitung kann man entweder die einzelnen Proglottiden in toto färben mit Boraxkarmin, Parakarmin, Alaunhämatoxylin, dann aufhellen und in Kanadabalsam montiren oder man bettet in Paraffin ein und färbt im Schnitt mit Hämatoxylin, Orange etc.

Zum Studium der Exkretionskanäle eignen sich ganz vorzüglich Injektionspräparate, die man mit einem zur Kapillare ausgezogenen Glasrohr vornimmt. Man sucht sich mit der Lupe einen Längskanal auf, sticht die Kapillare ein und bläst mit dem Munde die Injektionsmasse (Berlinerblau) ein und zwar der Klappen wegen von vorn nach hinten. Aehnlich verfährt man auch zur Injektion des Uterus. Man sticht zunächst unter der Lupe einen der Vorderäste desselben mit einer in Berlinerblau getauchten Nadel an. Nun bringt man die betreffende Proglottis in Wasser und sucht durch vorsichtiges Streichen mit dem Pinsel die Eier aus der entstandenen Oeffnung herauszupressen. Ist dies geschehen, so führt man in dieselbe, durch ihre blaue Farbe leicht wieder zu findende Oeffnung die Kapillare ein und injicirt wie oben (SOMMER).

Die GOLGI-Methode ergiebt für die Bearbeitung der Cestoden vorzügliche Resultate, man kann mit ihr nicht nur die Nerven, sondern auch die Muskulatur und Exkretionsorgane sehr gut darstellen (ZERNECKE, BLOCHMANN). TOWER hat für Moniecia mit Erfolg auch die vitale Methylenblaufärbung in Anwendung gebracht. Er bringt kurze Stücke der Würmer in 1‰ige Methylenblaulösung in Leitungswasser, der er auf 60 Ccm. 40 Ccm. einer Mischung von Eiweiss und Leitungswasser zusetzt. Auch Fixation 1—3 Cm. langer Stücke der Würmer in Pikrinessigplatinchlorid (VOM RATH) und Nachbehandlung in Holzessig ergiebt für das Studium des Nervensystems gute Bilder.

Embryologisches: Die frühen Stadien der Embryonalentwicklung der Cestoden erhält man gewöhnlich so, dass man entsprechende Proglottiden zerschneidet oder zerzupft und die Eier aus dem Fruchtbehälter mit Nadeln oder durch Schütteln isolirt. Bei Bothriocephalus, der die Eier sehr frühzeitig ablegt, braucht man nur die frisch aus dem Darm entleerten Thiere in reines Wasser zu bringen, wo dann die Eier bald in grossen Massen abgelegt werden. Die durch häufiges Schlemmen gereinigten Eier kann man in öfter gewechseltem Wasser zur vollen Entwicklung bringen (SCHAUINSLAND). Fixation in 1—2%iger Osmiumsäure oder koncentrirter Sublimatlösung. Vor der Färbung muss der Deckel entfernt werden, sonst dringt die Lösung nicht ein. VAN BENEDEN fixirt die Eier von Taenien 1 Stunde in 1%iger Osmiumsäure, behandelt dann ebenso lang mit 30%igem Alkohol, wäscht in Wasser und färbt 2—3 Tage in Pikrokarmin. Bei älteren Embryonen muss man vor der Färbung die Chitinhülle sprengen, indem man unter dem Deckglas so lange Flüssigkeit absaugt, bis dieser Effekt eintritt.

Nemertinen. Da sich die Nemertinen bei der Fixation stark kontrahiren, so müssen sie entweder ganz plötzlich abgetödtet oder vor der Fixation narkotisirt werden. Zu letzterem Zweck empfiehlt LO BIANCO 0,1%ige Lösung von Chloralhydrat in Seewasser (6—12 Stunden) oder

Zufügen einer 1—2%igen Cocainlösung. DENDY verwendet ½ Stunde lang Chloroformdampf. Als Fixativ für Nemertinen eignet sich nach LEE am meisten das Sublimat, kalt mit 1% Essigsäure. Kleinere Thiere kann man ganz konserviren, grössere muss man in Stücke schneiden. Für letztere empfiehlt sich auch Abtödtung in kochendem Wasser. Warme und heisse koncentrirte Sublimatlösung verwenden BÜRGER und MONTGOMERY. Ersterer übergiesst die Thiere mit der heissen Lösung und bringt sie nach einigen Minuten in 70%igen Alkohol. MONTGOMERY erwärmt für kleinere Formen die Lösung nur auf 40°. Für grössere Formen empfiehlt sich mehr eine koncentrirte alkoholische (50%) Sublimatlösung. Für Kernstrukturen ergeben FLEMMING-sche und HERMANN'sche, für Cilien PERÉNJI'sche Flüssigkeit bessere Resultate. DENDY konservirt die narkotisirten Würmer in starkem Alkohol, COE fixirt einige Minuten in 0,5%igem Formol oder in 2%igem Formol oder in 50%igem Alkohol und überträgt in schwachen Alkohol. Auch 24stündige Fixation in 2%iger Chromsäure ist zu empfehlen.

Auch für die Nemertinen ergiebt die vitale Methylenblaufärbung gute Resultate zur Darstellung des Nervensystems. BÜRGER injicirt die Thiere mit einer 0,5%igen Methylenblaulösung in 0,5%iger Kochsalzlösung und lässt sie bis zum Eintritt der Färbung (6—12 Stunden) auf feuchtem Fliesspapier liegen.

Als Macerationsmittel eignen sich 0,2%iges Formol (COE), Drittelalkohol und Osmiumessigsäure (gleiche Theile 0,05%ige Osmiumsäure und 0,2%ige Essigsäure, BÜRGER).

Embryologisches. Die Eier der getrennt geschlechtlichen Nemertinen lassen sich leicht künstlich befruchten, ein besonders günstiges Objekt für das Studium der Centralkörper bilden die Eier von Cerebratulus marginatus (KOSTANECKI). Fünf Minuten nach der Befruchtung bilden sich die Richtungsspindeln. KOSTANECKI fixirt die Eier vor allem in PERÉNJI'scher Flüssigkeit und in Sublimatessigsäure, COE in der letzteren (2—3% Eisessig) oder in Pikrinessigsäure 5 Stunden. Um möglichst viel Eier dicht beisammen zu haben, hüllt man sie in ein Stückchen abgehäutete Froschepidermis ein.

Nematoden. Für die Fixation der Nematoden ist eine Betäubung nicht nöthig, es setzt jedoch die oft sehr starke Kutikula dem Eindringen der Lösungen grossen Widerstand entgegen. Man wird deshalb, wenn angängig, die Körperwand des an beiden Enden festgesteckten Thieres vor der Fixation, am besten seitlich, schlitzen. Oder man legt zunächst das ganze Thier in die Fixationslösung ein für kürzere Zeit, ungefähr ½ Stunde, zerschneidet dann und lässt die Stücke noch 24 Stunden in der Lösung verweilen. Schliesslich kann man auch zunächst für kürzere Zeit in starke Essigsäure oder stark essigsäurehaltiges Sublimat und dann in reines Sublimat einlegen. Das letztere spielt bei der Fixation der Nematoden eine grosse Rolle, so fixirt STROESE Strongylus, nachdem der Wurm in Stücke geschnitten 5—20 Minuten in koncentrirtem Sublimat, längeres Liegenlassen empfiehlt sich nur für die Muskulatur. EHLERS fixirt Oxyuris 5 Minuten in heissem, koncentrirtem Sublimat. GOLOWIN legt grössere Nematoden zunächst ½—2 Stunden ganz in koncentrirtes Sublimat mit 25% Eisessig, zerschneidet dann und überträgt für weitere 24 Stunden in reines Sublimat. Bei sehr dicker Kutikula bringt man zuerst ½ Minute in Eisessig, dann mehrere Stunden in Sublimat mit 20% Eisessig und schliesslich über Nacht in reines Sublimat. Von anderen Fixationen empfiehlt VEJDOWSKY 0,5%ige Chromsäure für Gordius (24 Stunden), AUGSTEIN Pikrinsalpetersäure für Strongylus, GRAHAM FLEMMING'sche Flüssigkeit für Trichina, dieselbe benutzt ZUR STRASSEN für Bradynema. Bei der Paraffineinbettung muss man, um Schrumpfungen zu vermeiden, ausserordentlich vorsichtig verfahren.

Nach Hesse soll sich letztere dabei gar nicht vermeiden lassen und er empfiehlt deshalb für alle Fälle Celloidineinbettung.

Für die vielfach untersuchten Muskeln der Leibeswand scheint Müller'sche Flüssigkeit sehr geeignet zu sein, Bütschli lässt die Thiere $^1/_2$ Jahr darin liegen, die Muskeln lassen sich dann leicht zerzupfen, ergeben aber eingebettet auch gute Schnittpräparate. Apáthy steckt Ascaris an beiden Enden fest, schlitzt das Thier seitlich der Länge nach auf, lässt drei Tage und länger bei öfterem Wechsel in Müller liegen. Die einzelnen Muskelzellen lassen sich dann durch Schütteln leicht isoliren.

Zur Untersuchung des Nervensystems fixirt Hesse Ascaris entweder in Sublimat oder Flemming oder 0,5—1%iger Chromsäure. Einbettung in Celloidin.

Um Trichinen leicht in den Muskeln aufzufinden, empfiehlt Graham, die letzteren 2 Tage in 2%iger Essigsäure zu maceriren und dann in Essigkarmin zu färben. Nach Barnes kann man sie durch dreistündiges Behandeln mit Pepsinsalzsäure bei 37° isoliren und lebend untersuchen.

Embryologisches. Seit den klassischen Untersuchungen van Beneden's und Boveri's ist das Ei der Nematoden, speciell das von Ascaris megalocephala das bedeutsamste Objekt für die Untersuchung der Reifung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies geworden und bildet heute ein unentbehrliches Kurs- und Demonstrationsobjekt. Das Material kann man sich leicht aus jedem grösseren Pferdeschlachthaus verschaffen. Die aus dem Darm des Pferdes genommenen Thiere halten sich unter günstigen Bedingungen 1—2 Tage am Leben. Am besten transportirt man sie in einem grösseren, mit Darminhalt gefüllten Gefäss, das möglichst warm (37—40°) gehalten werden soll. Hula empfiehlt den Transport in einem abgebundenen Stück des Pferdedarmes selbst. Die herausgenommenen Würmer werden durch Abspülen gereinigt und in einer Präparirschale an beiden Enden mit Nadeln fixirt. Die Männchen erkennt man leicht an den aus dem hinteren Körperende hervorragenden Spiculis. Nachdem die Körperwand der Länge nach gespalten und durch Nadeln befestigt ist, wird der Darm entfernt und das Gewirr der Eiröhren etwas gelöst. Kommt es nur auf die Untersuchung von Befruchtungs- und Furchungsstadien an, so werden die beiden Uteri ungefähr 5—8 Cm. weit vor ihrer Vereinigung mit je einem Seidenfaden abgebunden (Vorsicht, damit der Schlauch nicht platzt). Dann schneidet man die Vagina mit einem Stückchen der umgebenden Körperwand heraus und hängt das ganze Präparat in der Fixationslösung auf. Die Eier von Ascaris werden kurz nach der Befruchtung, sobald sie sich mit ihrer dicken Schale umgeben haben, abgelegt, man muss deshalb, um Theilungsstadien zu erhalten, den Uterus noch 6—24 Stunden nach der Herausnahme in der feuchten Kammer, am besten bei Bruttemperatur, liegen lassen und wird dann von der Vagina nach oben alle möglichen Stadien in chronologischer Folge vorfinden. Zoja legt die Uteri nicht in die feuchte Kammer, sondern hängt sie in 50%igem Alkohol auf. Zur Fixation der Ascariseier sind eine grosse Zahl von Flüssigkeiten angegeben worden, von welchen nach unseren Erfahrungen die Alkoholeisessiggemische die konstantesten Resultate ergaben. van Beneden und Neyt fixiren die isolirten Eier 5—20 Minuten in gleichen Theilen absoluten Alkohol und Eisessig, v. Erlanger 4 Theile 95%igen Alkohol und 1 Theil Eisessig, Carnoy nimmt 1 Theil Eisessig auf 3 Theile Alkohol und Herla nur 1 Theil Eisessig auf 5 Theile Alkohol, ebenso Zoja. van Gehuchten fixirt in dem Carnoy'schen Alkohol-Chloroform-Eisessig (6 : 3 : 1). Carnoy und Lebrun haben dieses vorzügliche Gemisch später so abgeändert, dass sie die drei Komponenten zu gleichen Theilen mischen und die Mischung mit Sublimat sättigen. Boveri benutzte bei seinen Untersuchungen hauptsächlich eine Pikrinessigsäure (koncentrirte

wässerige Pikrinsäure 1 Theil und Wasser 2 Theile mit 1% Eisessig) und wäscht in 70%igem Alkohol aus oder er taucht die Eiröhren in kochenden absoluten Alkohol mit 1% Eisessig. Pikrinessigsäure verwendet auch HERTWIG, dann SPEMAN für Strongylus. Nach MEYER ist es jedoch für diesen Zweck unbrauchbar, er empfiehlt PERÉNJI. Sublimat ist hauptsächlich von KOSTANECKI und SIEDLECKI empfohlen, sie verwenden es entweder rein in koncentrirter Lösung oder zu gleichen Theilen mit 3%iger Salpetersäure vermischt oder schliesslich gleiche Theile koncentrirtes Sublimat, 3%ige Salpetersäure und absoluten Alkohol. FÜRST hat eine grössere Anzahl von Fixativen auf ihre Brauchbarkeit untersucht und die meisten brauchbar gefunden, eine Ausnahme macht das Formol. KULTSCHITZKY empfiehlt eine Mischung von 1 Theil Alkohol absolut. und 3 Theile Aether aceticus. ZACHARIAS setzt einer Mischung von 40 Ccm. absoluten Alkohols und 10 Ccm. Eisessig 20—30 Tropfen 1%ige Osmiumsäure zu. VOM RATH und HÄCKER empfehlen 24stündige Behandlung mit Platinchlorid-Osmium-Essigsäure und Nachbehandlung je 24 Stunden in rohem Holzessig und Methylalkohol. Nach unseren Erfahrungen ergab die konstantesten Resultate der CARNOY'sche Alkohol-Chloroform-Eisessig mit oder ohne Sublimat. Der Kuriosität halber sei noch die Angabe von MOSZKOWSKI angeführt, der die Eiröhren zur Fixation mehrere Wochen in 70%igem Alkohol liegen lässt. Will man Totalpräparate der Eier anfertigen, so überträgt man die in einem Alkoholeisessiggemisch fixirten Eier, resp. Uteri in eine Mischung von 3 Theilen Glycerin und 1 Theil koncentrirter wässeriger Lösung von Bismarckbraun oder Malachitgrün (VAN BENEDEN) oder in eine Lösung von 0,25 Grm. Malachitgrün und 0,25 Grm. Bismarckbraun in 100 Ccm. 10%igen Glycerin für 24 Stunden. Die Ueberfärbung wird korrigirt durch verdünntes Glycerin, das schwach mit Essigsäure angesäuert ist. Die Ueberführung in reines Glycerin muss sehr vorsichtig geschehen. Um eine völlige Entfärbung der Präparate mit der Zeit zu vermeiden, kann man dem Glycerin etwas Bismarckbraun zusetzen. BOVERI färbt die nach seiner Methode fixirten und in 70%igem Alkohol ausgewaschenen Eier in alkoholischem Boraxkarmin durch. Nach der Behandlung mit salzsaurem Alkohol kommen sie in eine Mischung von 1 Theil Glycerin und 3 Theilen absoluten Alkohol. Den letzteren lässt man dann nach und nach verdunsten. v. ERLANGER färbt in 10%igem Glycerin, in dem gleiche Theile Jodgrün und Bismarckbraun oder 2 Theile Jodgrün und 1 Theil Bismarckbraun gelöst sind. Ausserordentlich schöne Resultate erhält man, wenn man die Eiröhren in Paraffin einbettet und in Schnitte zerlegt. Die Einbettung muss ausserordentlich vorsichtig vorgenommen werden, da sonst die Eier stark schrumpfen. Zur Färbung leistet die HEIDENHAIN'sche Eisenhämatoxylinmethode mit oder ohne Vorfärbung in Bordeaux Unübertreffliches. Die Schnitte dürfen nicht zu dünn sein, nicht unter 10 μ. Zum Studium der Spermatogenese fixirt HERTWIG Ascarishoden in Pikrinessigsäure und schwacher FLEMMING'scher Flüssigkeit, die aber nach BRAUER von HERMANN'scher Flüssigkeit weit übertroffen werden.

Acantocephalen. Für Acantocephalen empfiehlt KEISER Fixation 5—30 Minuten in Sublimateisessig (Sublimat 10 Grm., Eisessig 3 Ccm., Wasser 300 Ccm.) oder eine koncentrirte Lösung von Quecksilberacetat mit einigen Tropfen Eisessig oder schliesslich am besten in koncentrirtem wässerigen Quecksilbercyanid 15—60 Minuten, dann 70%igen Alkohol. Alle werden bei einer Temperatur von 45—50° angewandt. Sehr vorsichtige Paraffineinbettung mit Benzol als Intermedium. Um Echinorhynchus völlig ausgestreckt zu erhalten, übergiesst HAMANN den eben aus dem Darm entnommenen Wurm mit koncentrirter Sublimatlösung oder mit Alkohol, der etwas Platinchlorid enthält. Für Furchungsstadien eignet sich besser FLEMMING'sche Flüssigkeit oder 0,3%iges Platinchlorid. SÄFFTIGEN erhält die

Thiere ausgestreckt, indem er sie ganz langsam, mit 1%iger Osmiumsäure oder ebenso starker Chromsäure abtödtet.

Polychaeten. Sowohl für die freilebenden Formen der Polychaeten, als auch für die Tubikolen empfiehlt es sich, vor der Fixation eine Betäubung der Thiere vorzunehmen. Das geschieht nach Lo Bianco entweder so, dass man die Thiere in Seewasser bringt, dem man 5% absoluten Alkohol zusetzt (Eisig nimmt für Capitelliden 1 Th. 70% Alkohol und 9 Th. Seewasser), oder man setzt 0,1% Chloralhydrat zu, oder man bringt die Thiere in kohlensäurehaltiges Wasser. Vogt und Yung empfehlen, nach Lo Bianco, auf die Oberfläche des Wassers etwas 1%ige Chromsäure zu giessen. Als Fixationsmittel benutzt Lo Bianco Alkohol (70%) oder ein Gemisch von Kupfersulfat und Sublimat (Alciope) oder koncentrirtes Sublimat (Tomopteris) oder 1%ige Chromsäure. Die letztere giebt aber nach Lee für histologische Zwecke keine guten Resultate, besser ist Sublimat, das auch Eisig für Capitelliden, Ehlers (93) für Arenicola (heiss), Jourdan für Eunice empfiehlt. 1%ige Osmiumsäure wird von Fraipont für Polygordius und von Jourdan für Eunice gerühmt. Orlandi fixirt Maldaniden in Flemming oder Zenker, Hermann gab schlechte Resultate. Lewis fixirt Maldaniden in vom Rath's Pikrinosmiumplatinchloridessigsäure 8 Tage, wäscht dann in Methylalkohol aus und behandelt 48 Stunden mit Holzessig nach. Er konnte so Centrosomen in den Nervenzellen nachweisen. Sublimat ergiebt häufige Schrumpfung des Zellprotoplasmas. Zur Untersuchung der Stützsubstanz des Nervensystems verwendet Wawrzik Material, das in Alkohol, Sublimat oder Osmium fixirt ist, färbt in alkoholischem Karmin nach Mayer und legt in Glycerin ein. Auch die vitale Methylenblaufärbung ist von Retzius und Langdon mit Erfolg für das Studium des Nervensystems verwendet worden; der letztere injicirt Nereïs, eine starke Methylenblaulösung, in die Leibeshöhle und legt das Thier in Seewasser einige Stunden ins Dunkle. Zur Untersuchung des Auges empfiehlt Hesse Fixation in konzentrirtem Sublimat oder Sublimateisessig (Sublimat 3—12 Grm., Kochsalz 6—10 Grm., Eisessig 6—8 Ccm., Wasser 100). Will man freilebende Polychaeten in toto einbetten und schneiden, so thut man gut, sie eine Zeit lang in reinem Seewasser zu halten, da sonst der Darm häufig mit Sand gefüllt ist.

Embryologisches. Ein seit der Publikation von Wheeler häufig untersuchtes Material sind die Eier von Myzostoma, ein auf Comatuliden schmarotzender kleiner Polychaete. Nach Häcker (99) vollzieht man die Befruchtung so, dass man möglichst grosse und dunkle Exemplare im Uhrschälchen mit zwei Nadeln zerzupft, die Gewebsfetzen entfernt und frisches Seewasser zusetzt. Nach 1—2 Stunden ist die Befruchtung vollzogen. Er bringt die sehr kleinen Eier mit einer Pipette in kleine Näpfchen, die man sich aus Ulvablättern zurecht schneidet, und setzt einige Tropfen Flemming'scher Flüssigkeit zu. Dann entfernt man das Fixativ und überträgt die Näpfchen mit den an ihm festklebenden Eiern in 70%igen Alkohol und weiter bis in Paraffin. Wheeler empfiehlt schwache Flemming'sche Flüssigkeit und Färbung der Schnitte mit Eisenhämatoxylin und Orange. Kostanecki erhielt die besten Resultate mit Perényi'scher Flüssigkeit, sie stellt die achromatische Substanz in tadelloser Weise dar. Brauchbare Resultate ergiebt auch 3%ige Salpetersäure. Eisig fixirt Eier und Larven von Capitelliden $^1/_2$ Stunde in 5%igem Seewassersublimat, dem er 25% Eisessig zusetzt. Um bei älteren Larven das Verkrümmen zu vermeiden, muss man sie erst dadurch narkotisiren, dass man dem die Larven enthaltenden Seewasser einige Tropfen 2%iger Cocaïnlösung zusetzt. Totalpräparate werden in Mayer'schem Hämacalcium mit Zusatz von 5% Eisessig gefärbt und dann in 70%igem Alkohol mit 2% Aluminiumnitrat differenzirt. Die in Stücke geschnittene Eigallerte von Arenicola fixirt Child in Pikrinschwefelsäure und Pikrinessig-

säure und überträgt dann in steigenden Alkohol bis 80%. In Wasser gebracht, quillt die Gallerte auf und die Eier lassen sich leicht entfernen. Pikrinsäure empfiehlt auch MEAD (96) für die Eier von Chaetopterus, vor allem für die Darstellung der Sphäre. Sublimatessigsäure wirkt hier destruktiv. Für Oberflächenpräparate eignet sich PERÉNJI'sche, für Zellstrukturen schwache FLEMMING'sche Flüssigkeit. VON WISTINGHAUSEN empfiehlt ebenfalls Pikrinschwefelsäure, aber mit 3 Th. Wasser verdünnt für Eier von Nereïs 1—2 Stunden, ältere Embryonen behandelt man besser 1 Stunde mit einer Mischung von 1%iger Osmiumsäure 1,5, 1% Chromsäure 25, 2%igem Eisessig 5, Wasser 70. Für Totalpräparate tödtet er die Eier in gleichen Theilen Glycerin, Wasser und Essigsäure und hebt sie auch darin auf. WILSON hat dagegen bei dem gleichen Objekt mit Pikrinschwefelsäure schlechte Resultate erhalten, er empfiehlt FLEMMING'sche und PERÉNJI'sche Flüssigkeit. Pikrinschwefelsäure wird andererseits wieder gelobt von KLEINENBERG für die Larven von Lopadorhynchus, Pikrinessigsäure von MAYER (3 Th. konz. Pikrin, 1 Th. Eisessig) für dasselbe Objekt, von KORSCHELT für die Larven von Ophryotrocha (Vorschrift von BOVERI). HÄCKER (94) fixirt Polychaetenlarven in Pikrinsäureplatinchlorid (VOM RATH).

Oligochaeten. Für die mikrotechnische Bearbeitung der terrikolen Oligochaeten ist der Umstand, dass der Darm dieser Thiere fast immer mit harten, unschneidbaren Massen (Erde, Sand) gefüllt ist, ein grosser Uebelstand, dem man auf verschiedene Weise begegnen kann. GOEHLICH setzt die Würmer für 2—3 Tage in eine zugedeckte Schale, auf deren Boden sich einige Tropfen Wasser befinden. Die Exkremente müssen sorgfältig entfernt werden. Nach der angegebenen Zeit ist der Darm meist leer. Sicherer ist die Methode von VOGT und YUNG, sie bringen die sorgfältig gewaschenen Würmer in ein Gefäss mit Kaffeesatz. Nach einigen Tagen haben die Thiere dann ihren Darm von allen erdigen Partikeln entleert und an ihrer Stelle mit schneidbarem Kaffeesatz gefüllt. KÜKENTHAL nimmt an Stelle des letzteren kleine angefeuchtete Filtrirpapierschnitzel und JOEST hält die Würmer einige Tage in feuchter Leinwand.

Da sich die Thiere bei der Fixation stark kontrahiren und verkrümmen, thut man gut, sie vorher zu narkotisiren, und verwendet zu diesem Zweck am besten Chloroform. CERFONTAINE bringt sie zu diesem Zweck in eine flache, zugedeckte Schale mit Wasser und stellt in eine Ecke ein Uhrschälchen mit Chloroform, COLLIN giebt in das Wasser ein Stückchen mit Chloroform getränktes Filtrirpapier. Auch Alkohol wird von CERFONTAINE empfohlen, er bedeckt die Würmer mit einer 0,5 Cm. hohen Wasserschicht, legt Fliesspapier darauf und träufelt etwas starken Alkohol auf. KÜKENTHAL narkotisirt in einer 1‰igen Chloralhydratlösung und CERFONTAINE injicirt zur Immobilisation 2 Ccm. einer 0,2% Curarelösung in die Leibeshöhle und legt den Wurm in Wasser. Nach 1/4 Stunde ist er unbeweglich. Für Limikolen eignet sich zur Betäubung 0,1%iges Hydroxylamin (HOFER, 20—30 Min.) oder 5%iger Alkohol (ATHESTON).

Als Fixationsmittel für Lumbricus empfiehlt KÜKENTHAL 70%igen Alkohol oder Sublimat, CERFONTAINE FLEMMING'sche Flüssigkeit, VOGT und YUNG Chromsäure oder Pikrinsäure, COLLIN gleiche Theile 70%igen Alkohol und koncentrirtes Sublimat, UHDE koncentrirtes heisses Sublimat, das aber nicht immer gute Resultate giebt, dasselbe Mittel benutzt VON WAGNER für Lumbriculus, UHDE tödtet den Wurm zunächst durch Uebergiessen mit kochendem Wasser, spannt ihn dann auf eine Korkplatte auf und fixirt ihn acht Stunden lang mit verdünnter Pikrinschwefelsäure (1/3). HOFER fixirt Naïs 10 Minuten in Pikrinessigsäure oder in Osmiumsäure, HAASE Tubifex durch Uebergiessen mit heissem (70—80°), koncentrirtem Sublimat, ATHESTON Dero in absolutem Alkohol, BRODE dasselbe Objekt in heissem Sublimat, 1%iger

Osmiumsäure oder HERMANN'scher Flüssigkeit, GALLOWAY empfiehlt dafür Sublimatessigsäure (1%) oder Pikrinschwefelsäure.

Zur Untersuchung des Blutgefässsystems verwendet BERGH eine Mischung von gleichen Theilen 1%igen Silbernitrats und 1%iger Salpetersäure oder das Gemisch von FISCHEL (1%iges Silbernitrat 50, Ameisensäure 25, Wasser 25). Man lässt die Objekte darin 1—2 Wochen im Dunkeln und reducirt dann kleine Stücke am Licht. Meeresformen müssen vor der Versilberung zur Entfernung des Kochsalzes mit 5%iger Salpetersäure behandelt werden. Zur Untersuchung der Blutgefässe in vivo eignen sich vor allem die durchsichtigen Naïden, wie Stylaria und Chaetogaster. Um das Kapillargefäss des Lumbricusdarmes auf natürlichem Wege zu injiciren taucht PERRIER den chloroformirten Wurm in schwache Chromsäure. Es ziehen sich dann die Hautgefässe zusammen, das Blut wird in die Gefässe des Darms getrieben und füllt dieselben prall.

Das vielfach untersuchte Nervensystem des Regenwurms legt KÜKENTHAL so frei, dass er den chloralisirten Wurm auf dem Rücken aufschneidet, mit Kakteenstacheln aufsteckt und für 10—12 Tage in 10%ige Salpetersäure legt, auswaschen in Wasser und einlegen 15 Minuten in 1%iges mit einer Spur Salzsäure angesäuertes Goldchlorid, wieder auswaschen und reduciren in 5%iger Ameisensäure. Man kann mit der Spritzflasche Darm und Muskulatur entfernen und durch Alkohol und Terpentin in Balsam übertragen. Ausser der von BRODE auch für Dero benutzten Vergoldung ist dann die rasche Golgimethode mit grossem Erfolg für das Nervensystem der Oligochaeten in Anwendung gezogen worden (LENHOSSÉK, SMIRNOW, RETZIUS; Näheres vergl. pag. 489 und 492). Auch die Methylenblaufärbung hat in dieser Beziehung gute Resultate ergeben (BRODE). FRIEDLÄNDER fixirt zur Untersuchung des Nervensystems Lumbriciden in 1%iger Osmiumsäure und reducirt dann in verdünntem Holzessig ($^1/_3$).

Zur Isolation der Kutikula eignet sich nach ATHESTON am besten Pepsin-Oxalsäure nach KUSKOW (siehe pag. 1324).

Embryologisches. Zum Studium der Spermatogenese von Lumbricus fixirt CALKINS das 9.—18. Segment 30 Minuten in Hermann oder er zerzupft die Samenblase des geschlechtsreifen Thieres in derselben Flüssigkeit, wäscht nach 10 Minuten in Wasser aus, überträgt in steigenden Alkohol und färbt das auf dem Objektträger angetrocknete Präparat. KLEINENBERG [79]) fixirt die Eier von Lumbricus 3 bis mehr Stunden in einer Pikrinschwefelsäure, auch Osmiumsäure in Dampfform giebt gute Resultate. Nach WILSON ist die PERÉNJIsche Flüssigkeit das einzige Mittel, das Lumbricuseier ohne Schrumpfung fixirt. Jüngere Stadien muss man, am besten in Glycerin, vom Eiweiss ablösen.

Gephyreen. Auch für die Gephyreen muss man ähnliche Vorsichtsmassregeln anwenden wie für die Oligochaeten, man muss durch längeren Aufenthalt in reinem Seewasser den Darm seines Inhaltes zu entleeren suchen und die Thiere vor der Fixation betäuben. Für den letzteren Zweck empfiehlt sich Zusatz von Alkohol zum Seewasser (WARD, CORI, METALNIKOFF), Tabaksrauch (CORI für Phoronis), Chloroform (VOGT und YUNG für Sipunculus, 0,1%iges Chloralhydrat in Seewasser [LO BIANCO]). CORI fixirt Phoronis, auf Glasplatten mit Pinseln ausgestreckt, mit Flemming, APEL tödtet Priapuliden zuerst durch langsames Erwärmen des Wassers auf 40°, dann fixirt er in 0,3%iger Chromsäure oder Pikrinschwefelsäure, METALNIKOFF injicirt Sublimatosmium nach APÁTHY oder GILSON'sches Gemisch in die Leibeshöhle von Sipunculus, legt ihn für einige Zeit ein, zerschneidet und lässt wiederum liegen.

Embryologisches. GRIFFIN fixirt Embryonen von Thalassema in Pikrinessigsäure.

Hirudineen. Zur Betäubung der Hirudineen empfiehlt Hofer ½ bis-2stündiges Einlegen in Hydroxylamin, sie sind dann völlig ausgestreckt, Graf (97) tödtet Nephelis mit Tabaksdekokt ab, Mayer in schwachem Alkohol mit Jod, Csiky chloroformirt Hirudo, Lee narkotisirt Nephelis in kohlensaurem Wasser oder tödtet mit Citronensaft ab. Lee fixirt mit Flemming, Graf mit Pikrinsäure oder Pikrinschwefelsäure (Nephelis), Whitmann mit Sublimat, Bolsius in frisch bereitetem Gilson'schen Gemisch (Hämopis, Nephelis, Clepsine). Für letztere ist nach Graf (97) eine Mischung von 9 Th. koncentrirter Pikrinsäure und 1 Th. Formol das beste Fixativ.

Zum Studium der Sehorgane fixirt Mayer die in schwachem Jodalkohol abgetödteten Hirudineen in Pikrinschwefelsäure und legt dann in 1%ige Osmiumsäure bis zur Bräunung ein, Durchfärben in Boraxkarmin, beim Ausziehen mit Salzsäurealkohol bleicht das Pigment aus. Csiky stellt die Nervenendigung in der Magenmuskulatur so dar, dass er vom Mund aus Citronensäure einspritzt und an beiden Enden abbindet. Dann wird der Magen herauspräparirt und nachdem das Epithel abpräparirt ist, in Wasser abgespült, für 20 Minuten in 1%iges Goldchlorid übertragen und im Dunkeln in 25%iger Ameisensäure reducirt.

Bristol macerirt 24—36 Stunden in 20%iger Salpetersäure oder Haller'schem Gemisch (Eisessig 1, Glycerin 1, Wasser 2). Man kann dann die Nerven leicht präpariren und in Boraxkarmin färben oder vergolden. (Ueber die Methoden von Apáthy und Bethe zur Darstellung der Neurofibrillen in den Ganglien der Hirudineen vergl. pag. 928 ff.)

Zur Injektion der Gefässe legt man nach Vogt und Yung ein Seitengefäss in der Länge von 1—2 Cm. frei, bringt das Thier für einige Tage ins Wasser, um die Kontraktilität der Gefässe zu vermindern und injicirt mittels einer feinen Glaskapillare.

Embryologisches. Whitmann fixirt die Eier von Clepsine für Schnittpräparate 15—30 Minuten in 0,1%iger Osmiumsäure, für Oberflächenbilder 5—10 Stunden in Chromsäure; Apáthy empfiehlt für das gleiche Objekt Fixation 12—14 Stunden in einer Mischung von gleichen Theilen koncentrirtem Sublimat, koncentrirter Pikrinsäure und 15%iger Essigsäure und überträgt sie direkt in 95%igen Alkohol, dann in Jodalkohol. Für Oberflächenbilder empfiehlt sich Alkoholessigsäure (3/1) oder Sublimat mit 20% Essigsäure.

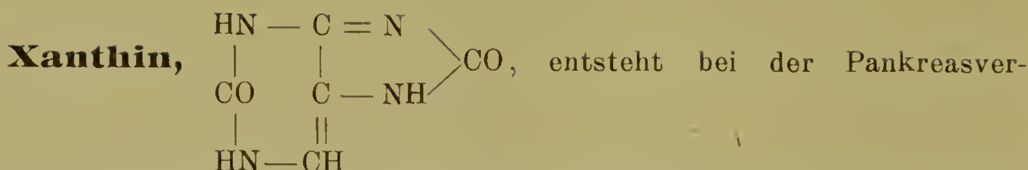
Litteratur: Lang (Zool. Anz., Bd. 1, 1878), Vogt und Yung (Lehrbuch der prakt. vergl. Anatomie, Braunschweig 1888/94), Braun (Arch. für die Naturkunde Livlands, Esthlands und Kurlands, Bd. 10, 1885), Böhmig (Zeit. wiss. Zool., Bd. 51, 1890), Lippitsch (ebenda, Bd. 49, 1889), Graff (Organisation der Turbellaria acoela, Leipzig 1891), von Wagner (Zool. Jahrb., Bd. 4, 1890), Lo Bianco (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 9, 1890), Chichkoff (Arch. Biol., Bd. 12, 1891), Woodworth (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard, Bd. 21, 1891), Kennel (Zool. Jahrb., Bd. 3, 1888), Hofer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Voigt (Verh. naturh. Ver. Bonn, Jahrg. 53, 1896), Klinkowstroem (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1897), Monti (Arch. ital. Biol., Bd. 27, 1897), Jänichen (Zeit. wiss. Zool., Bd. 62, 1896), Repiachoff (ebenda, Bd. 56, 1893), van der Stricht (Arch. Biol., Bd. 15, 1898), Francotte (Arch. Zool. expér., Bd. 6, 1898), van Name (Trans. Connecticut Ac. Sc. 1899), Jijima (Zeit. wiss. Zool., Bd. 40, 1884), Hofmann (Zool. Jahrb., Bd. 12, 1899), Loos (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), Walter (Zeit. wiss. Zool., Bd. 56, 1893), Bettendorf (Zool. Jahrb., Bd. 10, 1897), Wright und Macallum (Journ. Morph., Bd. 1, 1887), Mühling (Arch. Naturgesch., Jahrg. 64, 1898), Heckert (Bibl. Zool., Heft 4, 1889), Goldschmidt (Zeit. wiss. Zool., Bd. 71, 1902), Schwarze (ebenda, Bd. 43, 1885), Köhler (ebenda, Bd. 57, 1894), Lönnberg (Centr. Bakt. Bd. 11, 1892), de Filippi (Atti Real. Ac. Lincei Mem., Bd. 7, 1894), Will (Zeit. wiss. Zool., Bd. 56, 1893), Zernecke (Zool. Jahrb., Bd. 9, 1895), Blochmann (Biol. Centr., Bd. 15, 1895), Tower (Zool. Jahrb., Bd. 13, 1900), Schauinsland (Jena. Zeit. Nat., Bd. 19, 1886), van Beneden (Arch. Biol., Bd. 2, 1881), Dendy (Proc. Roy. Soc. Victoria, N. S., Bd 3, 1891), Lee (Rec. zool. Suisse, Bd. 4, 1888), derselbe (Lee und Mayer, Grundzüge), Bürger (Fauna, Flora, Golf Neapel, Bd. 22, 1895), Montgomery (Zool. Jahrb., Bd. 10, 1897), Coe (Transact. Connecticut. Ac. Sc., Bd. 9, 1895), Kostanecki (Bull. Ac. Sc., Cracovice 1902), Stroese (Inaug.-Diss. Rostock 1891, auch in Deutsch. Zeit. Thiermed., Bd. 18, 1891), Ehlers (Arch. Naturgesch., Jahrg. 65, 1899), Golowin (Mém. Univ. imp., Kazan 1901), Vejdowsky (Zeit. wiss. Zool., Bd. 57, 1894).

Augstein (Arch. Naturgesch., Bd. 60, 1894), Graham (Arch. mikr. Anat., Bd. 50, 1897), Zur Strassen (Zeit. wiss. Zool., Bd. 54, 1892), Hesse (ebenda), Bütschli (Festchr. Leuckart, 1892), Apáthy (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), Barnes (Amer. Month. Micr. Journ., Bd. 14, 1893), van Beneden (Recherches sur la maturation de l'oeuf, la fécondation et la division cellulaire, Bruxelles 1883), van Beneden und Neyt (Bull. Ac. Roy. Sc. Belgique, 3. Sér., Bd. 14, 1887), Boveri (Jena Zeit. Nat., Bd. 21, 1887), derselbe (Zellenstudien, Heft 1—3, Jena 1888/90), Herla (Arch. Biol., Bd. 13, 1895), Zoja (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), Carnoy (Cellule, Bd. 3, 1887), van Gehuchten (Anat. Anz., Bd. 3, 1888), Carnoy und Lebrun (Cellule, Bd. 13, 1897), Hertwig (Arch. mikr. Anat., Bd. 36, 1890), Spemann (Zool. Jahrb., Bd. 8, 1894), Meyer (Jena. Zeit. Nat., Bd. 29, 1895), Kostanecki und Siedlecki (Arch. mikr. Anat, Bd. 48, 1896), Kultschitzky (ebenda, Bd. 31, 1888), vom Rath und Häcker (cit. in Häcker: Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre, Jena 1899), Moszkowski (Arch. Mikr. Anat., Bd. 59, 1901), von Erlanger (ebenda, Bd. 49, 1897), Brauer (ebenda, Bd. 42, 1893), Keiser (Bibl. Zool., Heft 7, 1891), Hamam (Jena. Zeit. Nat., Bd. 25, 1890), Säfftigen (Morph. Jahrb., Bd. 10, 1884), Eisig (Fauna Flora Golf Neapel, Bd. 16, 1887), derselbe (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 13, 1898), Ehlers (Zeit. wiss. Zool., Bd. 53, Suppl., 1893), Jourdan (Annal. Sc. nat. Zool., 1887), Fraipont (Fauna Flora Golf Neapel, Bd. 14, 1887), Orlandi (Boll. Mus. Zool. comp. Anat., Genova 1898), Lewis (Anat. Anz., Bd. 12, 1896), Wawrzik (Inaug.-Diss., Breslau 1893), Langdon (Journ. Comp. Neurol., Bd. 10, 1900), Wheeler (Journ. Morph., Bd. 10, 1895), Kostanecki (Arch. mikr. Anat., Bd. 51, 1898), Child (Zool. Bull., Bd. 1, 1897), Mead (Journ. Morph., Bd. 10, 1895), von Wistinghausen (Mitth. Zool. Stat Neapel, Bd. 10, 1891), Wilson (Journ Morph., Bd. 6, 1892), Kleinenberg (Zeit. wiss. Zool., Bd. 44, 1886), Korschelt (ebenda, Bd. 60, 1895), Häcker (Zool. Jahrb., Bd. 8, 1894), Grehlich (Schneider's Beitr., Bd. 2, 1888), Kükenthal (Zeit. wiss. Zool., Bd. 45, 1887), derselbe (Vers. deutsch. Nat., Wiesbaden 1897), Cerfontaine (Arch. Biol., Bd. 10, 1890), Collin (Zeit. wiss. Zool., Bd. 46, 1888), Uhde (ebenda, Bd. 43, 1886), von Wagner (Zool. Jahrb., Bd. 13, 1900), Uhde (Zeit. wiss. Zool, Bd. 61, 1896), Haase (ebenda, Bd. 65, 1898), Atheston (Anat. Anz., Bd. 16, 1899), Galloway (Bull. Mus. Zool Comp. Anat. Harvard, Bd. 35, 1899), Bergh (Anat. Hefte, Heft 45, 1899), Perrier (Arch. Zool. expér., Bd. 3 u. 11, 1874 u. 81), Brode (Journ. Morph, Bd. 14, 1898), Friedländer (Zeit. wiss. Zool., Bd. 47, 1888), Calkins (Journ. Morph., Bd. 11, 1895), Kleinenberg (Quart. Journ. Micr. Sc., Bd. 19, 1879), Wilson (Journ. Morph. Bd. 1, 1887), Ward (Bull. Mus. Zool. Comp. Anat. Harvard, Bd. 21, 1891), Cori (Zeit. wiss. Zool., Bd. 51, 1890), Apel (ebenda, Bd. 62, 1896), Metalnikoff (ebenda, Bd. 68, 1900), Griffin (Journ. Morph., Bd. 15, 1899), Graf (States Hosp. Bull. 1897), Graf (Jena. Zeit. Nat., Bd. 28, 1893), B. L. Mayer (Zool. Jahrb., Bd. 5, 1892), Csiky (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 14, 1897), Bolsius (Cellule, Bd. 7, 1891), Bristol (Journ. Morph., Bd. 15, 1898), Whitman (Quart. Journ. Micr. Soc., Bd. 18, 1878).

Wundreiz bei Pflanzen, vergl. Pflanzliche Kerntheilung und Plasmaströmung.

X.

Xanthin,



entsteht bei der Pankreasverdauung und findet sich normalerweise in vielen Drüsen, im Harn, besonders in manchen Harnsteinen. Es ist in Wasser fast unlöslich, leicht löslich in Aetzalkalien und Ammoniak. Versetzt man eine Probe mit Chlorwasser und Salpetersäure, verdampft und setzt den Rückstand Ammoniakdämpfen aus, so färbt sich Xanthin rosenroth. (Siehe auch Alkaloide und Zellchemie.)

Xanthophyle siehe Chromatophorenfarbstoffe der Pflanzen.

Xanthoproteïnreaktion siehe Eiweissstoffe, pflanzliche.

Xylidinroth, Syn. Ponceau 2 R, Monazofarbstoff, der durch Einwirkung von Xylidin auf β-Naphtoldisulfosäure entsteht (Höchst, Berlin. Ludwigshafen). Braunrothes Pulver, das in Wasser mit dunkelrother, in Schwefelsäure mit mehr kirschrother Farbe löslich ist. Salzsäure und Natronlauge verändern die wässerige Lösung nicht.

Xylidinorange, Syn. Brillantorange R, Scharlach R, Orange N, dem vorigen nahe verwandt, entsteht durch Einwirkung von Xylidin auf β-Naphtolsulfosäure. Hellrothes Pulver, in Wasser mit gelbrother, in Schwefelsäure mit kirschrother Farbe löslich. Die wässerige Lösung bleibt mit Natronlauge unverändert, mit Salzsäure entsteht ein braunrother Niederschlag.

Xylol, $C_6H_4(CH_3)_2$, Dimethylxylol. Es existiren die 3 von der Theorie vorausgesehenen Isomeren, die sich sämmtlich in der bei 136—141° siedenden Fraktion des Steinkohlentheeröls finden. Es überwiegt hierin das Meta-Xylol.

CH_3

a) Orthoxylol, CH_3, siedet rein bei 142—143°; es giebt bei der Oxydation Phtalsäure.

CH_3

b) Metaxylol, CH_3, siedet bei 139,8°; giebt bei der Oxydation

Isophtalsäure. Spec. Gew. 0,878 bei 0°.

c) Paraxylol, $C_6H_4(CH_3)_2$ (1,4), siedet bei 136—137°; giebt bei der Oxydation Terephtalsäure. Es erstarrt im Kältegemisch zu monoklinen, prismatischen Krystallen, die bei + 15° schmelzen. Spec. Gew. 0,8621 bei 19,5°.

Das gewöhnliche Xylol des Handels ist ein Gemisch der 3 Isomeren von wechselnder Zusammensetzung. *Neuberg*, Berlin.

Das Xylol findet in der Mikrotechnik eine sehr ausgedehnte Verwendung als Intermedium für Paraffineinbettung und Kanadabalsam. Für den ersteren Zweck eignet es sich ausgezeichnet, da es Paraffin sehr gut löst und nicht verschmiert, nur macht es bindegewebsreiche Organe etwas hart. Da das Xylol sehr wasserempfindlich ist, es mischt sich klar nur mit 96% Alkohol, so müssen die Objekte sehr gut entwässert sein. Sie werden ziemlich durchsichtig im Xylol und im allgemeinen schneller durchtränkt als z. B. von Chloroform; für kleine Objekte genügt schon ein Aufenthalt von einer Stunde.

Als Intermedium für Kanadabalsam ist das Xylol ebenfalls gut geeignet und wird heutzutage der Balsam wohl zum grössten Theil in Xylol gelöst. Manche Farbstoffe zieht Xylol bei längerem Aufenthalt stark aus, das gilt vor allem für Pikrinsäure und in geringerem Masse auch für Säurefuchsin. Man soll sich deshalb hüten, derartige Präparate längere Zeit in Xylol aufzubewahren. Dagegen ist es für Hämatoxylinpräparate absolut unschädlich, so können WEIGERT'sche Markscheidenpräparate wochen- und monatelang, ohne verändert zu werden, in Xylol liegen.

Um die Wasserempfindlichkeit des Xylols herunterzusetzen und Celloidinschnitte aus 90—94%igem Alkohol in Xylolbalsam übertragen zu können, hat man dem Xylol Zusätze von Karbolsäure und Anilin gemacht. (Näheres siehe Anilin und Karbolsäure.)

Z.

Zählkammer für Blutkörperchen siehe Blut.

Zähne siehe Knochen und Zähne.

Zeichnen und **Zeichenapparate.** Eine objektivirte Kontrolle von mikroskopisch Gesehenem in der Form einer Zeichnung wird gefordert durch das oft verwickelte Durcheinander der Objekttheile im Präparat und begünstigt durch die Bau- und Gebrauchsart des Mikroskops. Das Zeichnen mikroskopischer Objekte besitzt dementsprechend drei bedeutende Vorzüge, die seiner Verwendung einen besonderen Vortheil verleihen, nämlich: 1. durch fortgesetzte Beobachtung eine subjektive sowohl wie eine objektive Kontrolle auszuführen, 2. Undeutliches in und neben der eingestellten Bildebene fortzulassen, 3. das beobachtete Objekt in seiner Gesammtform, bezw. seinem Verlauf durch ununterbrochen aufeinanderfolgende Einstellung einer Reihe optischer Ebenen darstellen zu können.

Alle diese Vorzüge besitzt es gegenüber der Photographie, den dritten insbesondere bei der Untersuchung von Gebilden bis über die Grenze des Mikroskopischen hinaus. Wird beispielsweise eine Rückenmarksvorderhornzelle schon durch das Schneiden in mehrere Scheiben zerlegt, so multipliciren sich die optischen Querschnitte bei der mikroskopischen Beobachtung zu einer überaus grossen Anzahl, die mit der Stärke und Apertur des Objektivs steigt. Diese optische Zerlegung des Materials, die bei geometrisch gebauten Objekten vortheilhaft, bei vielen anderen dagegen unvermeidlich und nachtheilig sein kann, bedingt eine mit Verlust der Uebersichtlichkeit einhergehende Vermehrung der Deutlichkeit der Einzelheiten im Bilde, die dann erst im Bewusstsein oder mit Hilfe von Zeichenapparaten zusammengefügt werden.

Das Zeichnen mikroskopischer Bilder vollzieht sich nach drei wesentlich verschiedenen Arten, die sich sämmtlich vortheilhaft von der freien Handzeichnung makroskopischer Gegenstände dadurch unterscheiden, dass der Blick während des Zeichnens stetig am Objekt haftet. Bei der ersten und einfachsten Art des mikroskopischen Zeichnens vereinigt man im Gehirn mit dem Bilde des Objekts, welches in dem einen Auge entworfen wird, das von dem anderen Auge wahrgenommene Bild der fortschreitenden Zeichnung. bezw. Zeichenspitze. Bei der zweiten Zeichnungsart werden die beiden virtuellen Bilder mittels Hilfsapparate am Mikroskop im Auge vereinigt. Bei der dritten Art wird ein reelles Bild des Objekts auf die Zeichenfläche projicirt und dort nachgezeichnet.

Die physiologische Fähigkeit, zwei je mit einem Auge gesehene, mehr oder weniger verschieden gestaltete Bilder, in unserem Falle das mikroskopische Sehfeld und die entstehende Zeichnung, streng zu vergleichen und

zu einem Bilde zu vereinigen, ist bei verschiedenen Individuen in ungleichem Grade vorhanden. Es lässt sich annehmen, dass ein häufig einseitiger Gebrauch der Augen die Ausübung dieses Vermögens erschweren, eine habituelle Koordination dagegen dieselbe erleichtern kann. Die Ausübung des einfachen Handzeichnens wie des mikroskopischen Zeichnens überhaupt findet erst bei einem allgemeinen Ausgleich der Beleuchtungen von Objekt und Zeichenfläche statt, mit deren Vollkommenheit diejenige der Zeichnung wächst. Das Zeichnen ohne bildvereinigenden Hilfsapparat besitzt dadurch einen Vortheil, dass der Blick nach dem Objekt ohne Verlust an Deutlichkeit und Helligkeit auch ein, das ganze Sehfeld übersehender, freier ist.

Bei der zweiten Art des mikroskopischen Zeichnens findet dicht oberhalb der Augenlinse des Okulars eine Spiegelung des einen seitlich liegenden Gegenstandes, sei derselbe Objekt oder Zeichenfläche, mit ins Auge statt. Es vollzieht sich dann auf der Netzhaut eine optische Vereinigung der beiden vor dem Auge noch virtuellen, symmetrisch zur Hauptebene gelagerten, sodann an der Retina übereinander projicirten reell werdenden Bilder des Objekts und der Zeichenfläche.

Der Spiegel befindet sich immer in schräger Richtung zur optischen Achse des Mikroskops im mittleren Niveau der Kreuzungen der aus dem Mikroskop unter mehr oder weniger grossem Winkel (je nach der Stärke des Okulars) heraustretenden Strahlenbündel, welche diese Austrittspupille des Mikroskops in sich schliessen, so dass die Pupille des Auges sich nicht mehr wie bei der einfachen mikroskopischen Beobachtung mit der genannten Austrittspupille deckt, sondern bei jeder Stellung des Auges innerhalb des sich ausbreitenden Strahlenkegels nur einen Theil des Gesammtbildes einlässt, und somit den weitaus grösseren Theil des mikroskopischen Gesichtsfeldes abschneidet, welches nach und nach ganz zu übersehen Verstellungen des Kopfes erfordert.

Von Wollaston wurde das erläuterte Princip mittelst einer Vorrichtung eingeführt, die seither unter dem Namen »Camera lucida« auch in anderen Formen bekannt, von ihm für das wagerechte stehende Mikroskop benutzt, im wesentlichen aus einem rechtwinklig gleichschenkligen Prisma besteht, dessen versilberte Hypotenuse, im Winkel von 45° zur optischen Achse des Mikroskops gestellt, die vom Okular kommenden Strahlenbündel nach oben in die Pupille des Auges wirft, deren Mitte sich in der Ebene der hinteren Prismafläche befindet. Es vereinigen sich dann in der Netzhaut des Auges das Spiegelbild des Objekts mit dem aufrechten Bilde der hinter dem Prisma vorbeigesehenen Zeichenfläche, bezw. Zeichnung.

Während diese letztere, die unmittelbar gesehen wird, ihre Deutlichkeit an und für sich behält, kommen in dem Gesammtbild ausser einer Verschleierung des Objekts durch die helle Zeichenfläche die prismatischen Bildfehler zum Ausdruck, welche durch Brechung, durch Glasdicke und durch farbige Lichtdispersion verursacht werden. Da die letztgenannte verhältnissmässig klein ist, kann sie vernachlässigt werden, dagegen bedingen die ersteren grobe optische Fehler, die aber deswegen wenig merklich sind, indem die Dislokation der Augen- von der Mikroskoppupille in jedem Augenblick nur Strahlenbündel von kleiner Divergenz ins Auge treten lassen.

Einen Begriff der Wirkung der prismatischen Lichtbrechung quer zum Prisma wie der verschiedenen Glasdicke längs des Prismas geben die Fig. 126 und 127, in denen für Strahlen aus einem einzelnen Lichtkreuzungspunkt fortgesetzte punktirte Linien die stattfindenden Strahlenverschiebungen in dem Hauptquerschnitt, beziehungsweise in 2 Längsschnitten eines reflektirenden Prismas und somit einen Verlust der Homocentricität der Strahlen darstellen, der imstande ist, dem Gesammtbild seine Treue und je nach dem Umfang des auf einmal gesehenen Bruchtheils auch seiner Deutlich-

keiten zu berauben. Die schrägen Strahlenverschiebungen ausserhalb der dargestellten rechtwinklig zueinander liegenden Hauptschnittebenen, die das Gros der prismatischen Bildfehler ausmachen, setzen sich mit gewisser Annäherung aus dem in Fig. 126 und dem in Fig. 127 dargestellten Komponenten zusammen, sind also immer grösser als diese allein und steigen bis zu der mittleren dazwischenliegenden schrägen Ebene an.

Das reflektirende Prisma WOLLASTON's ersetzte SÖMMERING durch eine einfache Spiegelfläche in der Form einer die Mitte der Austrittspupille ausfüllenden runden Metallscheibe, doch später fand eine Rückkehr zum Prisma seitens OBERHÄUSER statt, der die durch Glasdicke entstehenden Bildfehler möglichst klein hielt, und die zweite Verbesserung SÖMMERING's, die in der koncentrischen Theilung der Mikroskoppupille und einer gleichmässigen Beleuchtung des Gesichtsfeldes bestand, dadurch beibehielt, dass er das klein gehaltene Prisma in die Mitte der Mikroskoppupille stellte. Den SÖMMERING'schen Spiegel benutzte BEALE in der Form einer Rauchglasscheibe,

Fig. 126.

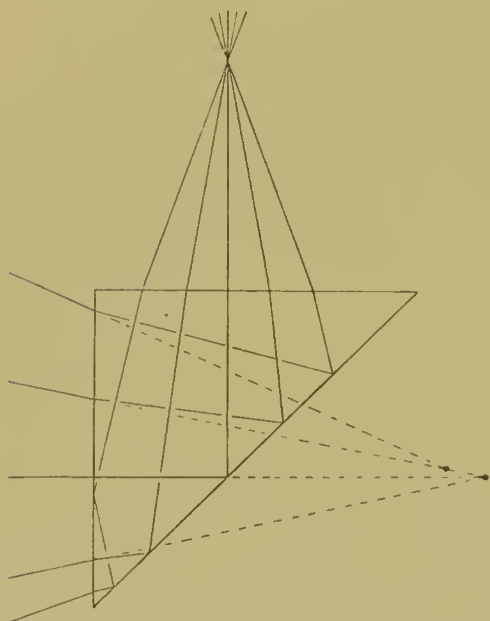
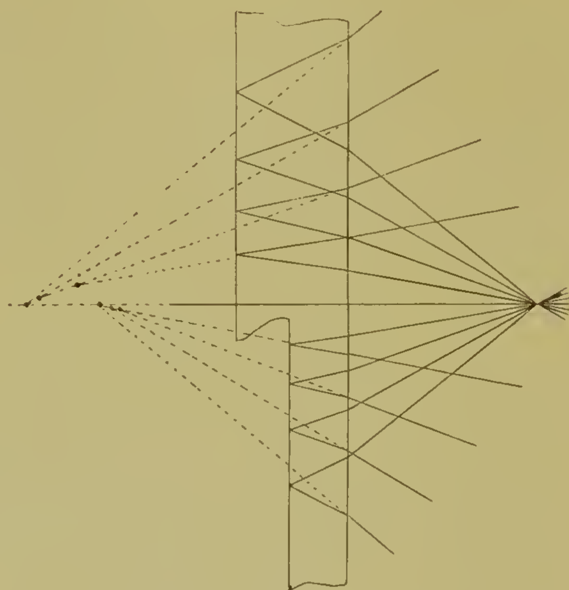


Fig. 127.



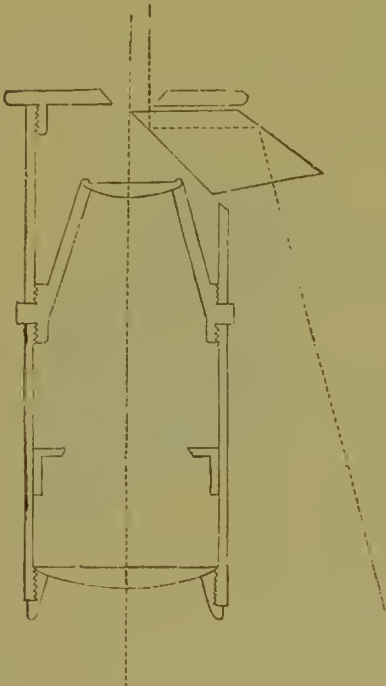
welche die Pupille ganz ausfüllte, Andere wandten in noch einfacherer Weise Deckgläschen an, welche die kleinen von der Glasdicke noch herrührenden Bildfehler ganz beseitigten.

Um das Mikroskop nicht mehr wagerecht gebrauchen zu müssen und die Zeichenfläche in ihrer Lage zwischen Beobachter und Mikroskopstativ doch beizubehalten, brachte OBERHÄUSER an einem Ende eines knieförmigen Tubus das Okular sammt reflektirendem Prisma und in dem Knie ein grösseres reflektirendes Prisma an, das beim Einfügen des zweiten Tubusendes in den Mikroskoptubus in dessen optischer Achse zu liegen kam. Um das Mikroskop auch in senkrechter Stellung benutzen zu können und das Objekt dabei nicht erst durch das Zeichenprisma sehen zu müssen, verwerthete AMICI ausser einem SÖMMERING'schen, hier durchlochten Spiegel ein reflektirendes Prisma, das die Blickrichtung nach der Zeichenfläche in schrägem Winkel ablenkte. Mit dem Ersatz des Prismas durch einen zweiten Planspiegel führte SEIBERT hierauf eine Vereinfachung und Verbesserung ein, während ZEISS unter Benutzung des WOLLASTON'schen Princips eine Neukonstruktion mit zwei nicht mehr rechtwinkligen nebeneinanderstehenden

Prismen einführte und LEITZ sich mit einem einzigen Prisma begnügte (s. Fig. 128), das in neuerer Ausführung, rechtwinklig spitzwinklig geschnitten und ohne Zuhilfenahme von Versilberung, mit dem Zeichenokular in einer kompakten Fassung untergebracht ist.

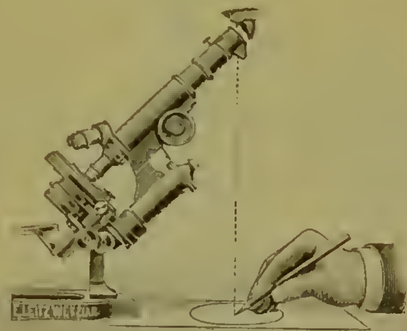
Das gemeinsam Erforderliche bei den erwähnten Vorrichtungen für das Zeichnen bei aufrecht- bezw. schräg stehendem Mikroskop ist eine Zeichenfläche rechtwinklig zu der schräg abgelenkten Blickrichtung. Steht das Mikroskop aufrecht, so muss die Fläche um den im Zeichenapparat gegebenen Brechungswinkel der Blickrichtung zum Horizont geneigt sein, was bei seitlicher Lage der Zeichenfläche höchst unbequem ist, dagegen bei einer Stellung jenseits des Mikroskops mehrere Vorzüge hat. Weicht die optische Achse des Mikroskops um den genannten Winkel von der Vertikalen ab, so kommt die Zeichenfläche wagerecht, normal zur Blickrichtung und zwischen Mikroskop und Beobachter zu liegen (s. Fig. 129).

Fig. 128.



Um auch bei aufrechtem Mikroskop eine wagerechte Zeichenfläche ohne die sonst entstehende Bildverzerrung

Fig. 129.



zu verwenden, konstruirte ABBE einen Zeichenapparat, dem ausser der Camera lucida ein in Augenhöhe angebrachter seitlicher Spiegel angehört, der bei einer Stellung von 45° zum Horizont das erstrebte Ziel erreichen lässt (s. Fig. 130).

Dieser Apparat, wie auch zum Theil die vorher genannten, trägt abgestufte Rauchgläser zwischen Mikroskoppupille und Seitenspiegel, sowie zwischen Auge und Okular, welche die gegenseitige Helligkeit der Bilder des Objekts und der Zeichenfläche ausgleichen lassen.

Das SÖMMERING'sche Princip der koncentrischen Pupillentheilung findet hierbei in dauerhafter Form dadurch Anwendung, dass ein aus zwei rechtwinkligen Prismen zusammengesetzter Glaswürfel zwischen den einander zugekehrten Hypotenusen eine in der Mitte mit kleiner runder Oeffnung versehene Versilberung einschliesst. Durch den Würfel und diese Oeffnung wird das mikroskopische Bild des Objekts, durch das obere Prisma, vom Spiegel reflektirt, das Bild der Zeichenfläche vermittelt. Das Instrument ist der handlicheren Camera lucida von ZEISS deshalb vorzuziehen, da die Zeichenspitze ausserhalb der Bildmitte weit deutlicher reflektirt wird.

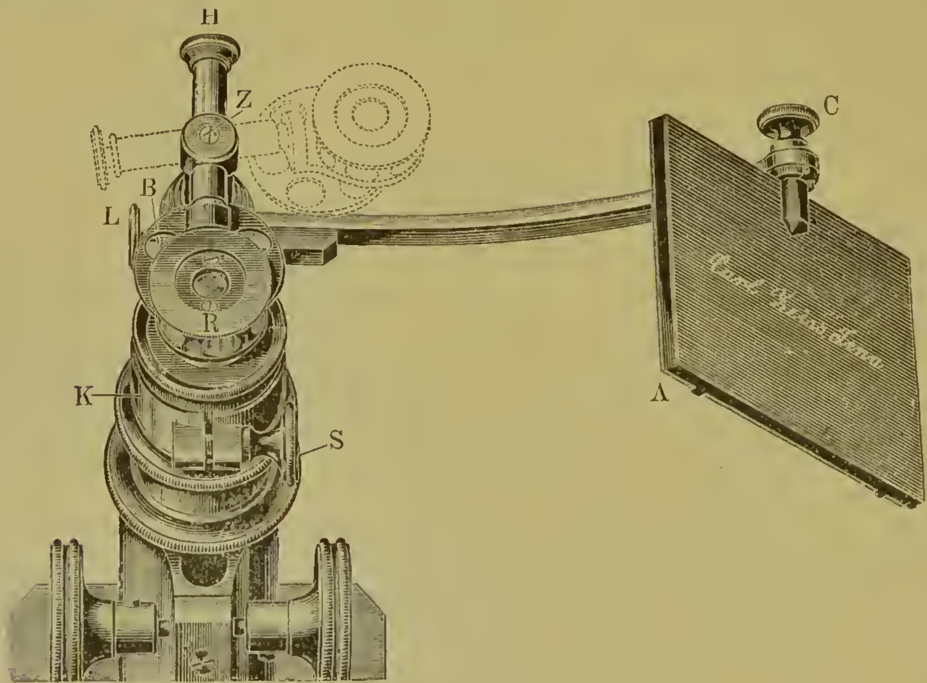
Um bei aufrechtstehendem Mikroskop Prismen zu entbehren und eine nach vorn unten gerade Blickrichtung auf die Zeichenfläche zu gewinnen, lässt sich, wie in Fig. 133 im Umriss dargestellt, ein kleiner lichtdurchlässiger Silberspiegel auf Glas an der üblichen Stelle der Camera lucida doch

weniger geneigt benutzen. Wenn ausserdem die Lichtdurchlässigkeit des Spiegels von einer zur anderen Seite zunimmt, so vollzieht sich bei einer seitlicher Bewegung desselben eine Abschwächung der Helligkeit des einen und eine Verstärkung deren des anderen Bildes zugleich. Hierdurch stellt sich mit dem Ausgleich der beiden Helligkeiten das Optimum der Gesammtbeleuchtung unfehlbar ein. Geschieht das spielend leicht, so wird auch das bei dem mikroskopischen Zeichnen erste Ziel — nicht an den Apparat denken zu müssen, wie sonst im modernen Mikroskop verwirklicht ist — in weiterem Maasse gewährt.

Zum Gebrauch mit diesen wie anderen Formen der Camera lucida eignen sich die Zeichentische von GIESENHAGEN (SEIBERT) (s. Fig. 134) und BERNARD (ZEISS).

Eine für grössere Präparate bestimmte Camera lucida verbunden mit einem einfachen Mikroskop (s. Fig. 132) wurde von THOMA konstruirt, die mit einer Reihe von Linsenpaaren für Vergrösserungen bis zum Zehn-

Fig. 130.



fachen und durch Umkehrung für Verkleinerungen bis zu $^1/_6$ ausgestattet ist. Durch auflegbare Hohl- als Augenlinsen entstehen ferner GALILEI'sche Systeme, die namentlich für Augen, welche nicht leicht auf das Unendliche eingestellt werden können, vortheilhaft sind. Durch Höhenänderung des Abstandes am Stativ stellt man gleichzeitig auf Objekt und Zeichenfläche ein.

Ein vielen Anforderungen genügender allgemeiner Zeichenapparat von BEHRENS (Winkel) verbunden mit besonderem Mikroskop und Stativ (s. Fig. 133) ist auch für das Zeichnen grösserer Präparate besonders geeignet.

Die dritte Zeichnungsart, bei der ein Bild des Objekts auf die Zeichenfläche projicirt wird, vermitteln die EDINGER'schen Konstruktionen (s. »Projektion«), die für grössere durchsichtige Präparate bestimmt sind. Das in einem wagerechten Tubus von einer nach aussen verdunkelten Lampe ausgehende Licht wird mittels zweier Sammellinsen und eines dazwischenliegenden um 45° geneigten Spiegels nach unten auf die Zeichenfläche geworfen. In dem senkrechten Lichtverlauf wird das Präparat zunächst durchleuchtet und dann durch ein weiter unten befindliches Objektiv von verschiedener, aber nicht grosser Stärke auf die Zeichenfläche projicirt.

Für Zeichnungen wie Wandtafeln von noch grösserem Format lassen sich die verschiedenen Projektionsapparate für mikroskopische Präparate wie diejenigen für Diapositive ohneweiters verwenden (s. »Projektion«).

Wie für andere Handfertigkeiten sind auch für das Zeichnen die Form und Geschicklichkeit, vornehmlich der rechten Hand nebst Handgelenk und Unterarm maassgebend. Von Vortheil sind schlanke Finger, biegsame Gelenke und empfindliche Haut, verbunden mit der allgemein körperlichen Fähigkeit längere Zeit ruhig sitzen zu können. Eine Hauptbedingung bei der Ausübung des Zeichnens besonders während der demselben vorangehenden Stunde ist das Fernhalten von anstrengender Beschäftigung der

Fig. 131.

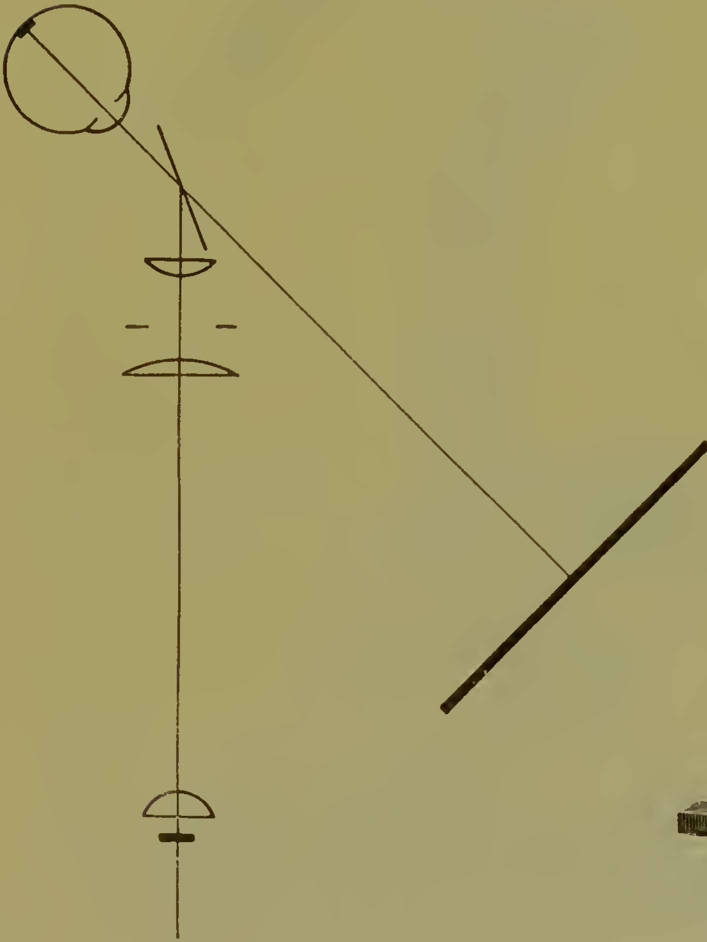
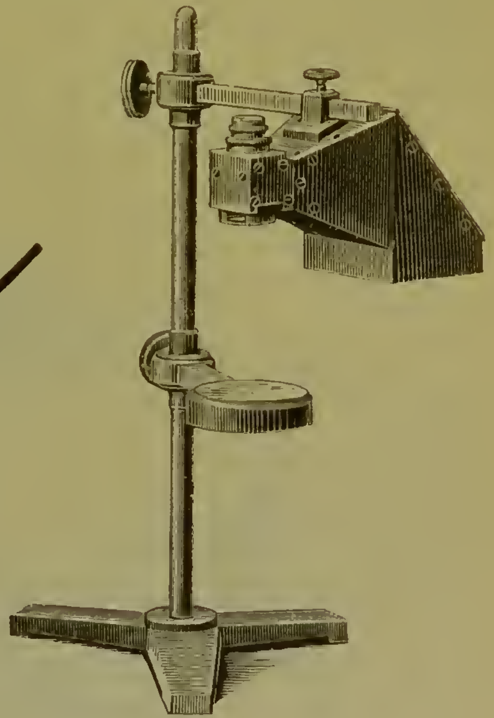


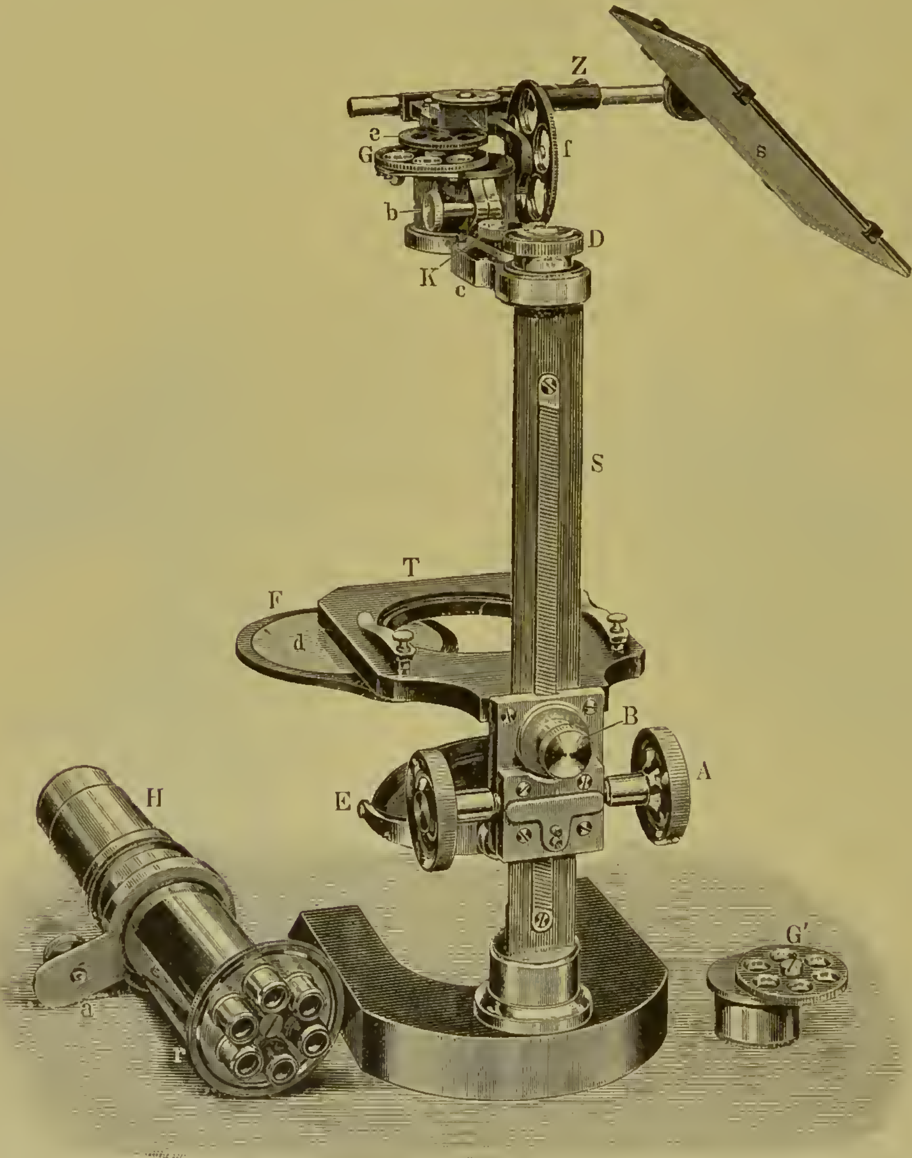
Fig. 132.



Augen und der Arme. Was das Auge sonst anbetrifft, so dürfte Kurzsichtigkeit ein Vorzug sein, infolge der bei Myopen habituell genaueren Betrachtung von Einzelheiten deutlicher gesehenen Objekte. Von überaus grosser Bedeutung, namentlich für die Zeichnung aller grösserer Konturen, sowie für das Hintanhalten der Muskelermüdung sind die Unterstützungsflächen, welche die Last der Extremität aufnehmen und vertheilen, da diese nur zum kleinen Theil der zeichnenden Hand zugemuthet werden dürfte. Von Belang ist ferner die Möglichkeit leichter Armdrehungen, bezw. Rotirungen um die Längsachse, wie auch um die Mitte des Vorderarms als Hypomochlion, indem solche Drehungen Schwenkungen von einer zur anderen Seite der Zeichnung leicht und sicher bewirken. Da bei dem Uebergang von der einfachen mikroskopischen Beobachtung, bei der das Auge normalerweise auf

Unendlich eingestellt ist, die Akkommodation mit dem Zeichnen eintritt, so ist, um Ueberanstrengung zu vermeiden, der Abstand der Augen von der Zeichenfläche in der Blicklinie der individuellen Sehweite gleich zu setzen. Bei feststehender, bezw. sonst zweckmässiger Lage der Zeichenfläche lässt sich das durch Monokel, bezw. kleine Linsen von geeigneter Stärke erzielen, die beim Gebrauch eines Zeichenapparates seitlich an diesen angebracht werden können. Die Lage und Höhe der Zeichenfläche und die Höhe

Fig. 133.



des Sitzes am Mikroskoptisch sind auch den individuellen Körperverhältnissen wie der Mikroskophöhe anzupassen.

Die der Zeichenfläche oft gegebene Lage zur Seite des aufrechtstehenden Mikroskops lässt am Tischrand keine genügende Unterstützungsfläche frei für die Last des Arms und beeinträchtigt somit das freie Spiel der Hand. Es bildet dies einen Nachtheil, der bei dem Gebrauch von Zeichenapparaten fortfallen kann, wenn diese eine Verlagerung der Zeichenfläche nach vorn, also jenseits des Mikroskops gestatten.

Das zu zeichnende Präparat bietet für das Zeichnen günstige Bedingungen, wenn es dünn, bezw. schwach gefärbt ist. Vereinzelt liegende

kleine Gebilde, wie Bakterien u. dergl. m., werden dagegen vorzugsweise stark gefärbt. Beim Vorhandensein von ausgebreiteten dunklen Flächen im Bilde besteht eine Schwierigkeit darin, die Zeichenspitze im Auge zu behalten. Wenn wie bei der Darstellung vom Nervenfaserverlauf minutiöses Zeichnen nicht erforderlich ist, so lässt sich die störende Helligkeit der Zeichenfläche, die die Wahrnehmung der Zeichenspitze erschwert, dadurch beseitigen, dass man mit hellfarbigem Druckstift durch Kohlenpapier auf eine weisse Unterlage hindurchpaust.

Das zur Beleuchtung des Objekts und der Zeichenfläche beste Licht ist im allgemeinen Tageslicht. Die vortheilhafteste künstliche Lichtquelle ist ein kleiner, wenig Hitze gebender, möglichst niedrig gestellter Gasglühstrumpf, der zweckgemäss mit einem etwas nach unten gerichteten Reflektor, bezw. Lichtschirm und einem vor das Gesicht des Mikroskopirenden gestellten Wärmeschirm versehen ist. Unter Umständen kommt das sehr weisse Nernst'sche Glühlicht doch nur im Brennpunkt von Hohlspiegeln in Betracht. Aeusserst ausgiebig und sonst vortheilhaft sind elliptische Hohlspiegel. Elektrisches Bogenlicht ist infolge seiner Ungleichmässigkeit sowie der Lichtüberfülle im Zimmer im allgemeinen zu verwerfen. Zur Zeichnung feinster Einzelheiten käme es allenfalls wegen seiner absoluten Stärke wie auch wegen seines Reichthums an kurzwelligen Strahlen, sodann unter Anwendung eines Blaufilters in Frage. Beim Zeichnen ist es von wesentlicher Bedeutung, betreffs der Wiedererkennung von gefärbten Objekten nur eine Art künstlichen Lichts von gleichmässiger Gesammtfarbe, und zwar der des Tageslichts ähnlich, also möglichst »weiss« zu verwenden.

Künstliches Licht kann unter Umständen von praktischem Vortheil sein, wie bei dem Zeichnen kleinster Objekte, z. B. Bakteriengeissel, wo bei starker Vergrösserung das Gesichtsfeld nicht mehr hell bleibt, indem sich dann der Ausgleich der Beleuchtung der Zeichenfläche durch Regulirung des Zimmerlichts einfach gestaltet. Ferner verringert sich dabei das in die Augen tretende Seitenlicht mit Vortheil, da die Grösse der beiden Pupillen und infolgedessen die Menge des in das beobachtende Auge vom Mikroskop eintretenden, die Helligkeit des Objekts mitbestimmenden Lichts von der Gesammtmenge, die sie erreicht, abhängt, zumal da die benutzte Pupille wenig zur Verschärfung des Bildes beiträgt, die die Mikroskoppupille schon bewirkt, vielmehr nur das dem Auge unmässige Licht abblendet. Für Objekte von bedeutender Winkelgrösse im Gesichtsfeld wird die Sehschärfe der Augen auch bei einer etwas gedämpften Beleuchtung durch die hierdurch bedingte Pupillenerweiterung nebst Adaption der Netzhautempfindlichkeit auf der Höhe, und zwar dauernd erhalten.

Die Dämpfung des seitlich in die Augen einfallenden Zimmerlichts lässt sich am Tage durch die Anwendung von mattem Glas, bezw. Seidenpapier vor der Lichtquelle erzielen. Die Anbringung solcher Lichtdämpfer in Streifen am Fenster gestattet ferner die während des Zeichnens oft nothwendige Abstufung der Beleuchtung des Objekts durch einfache Drehungen des mit einem Griff versehenen Mikroskopspiegels rasch und sicher auszuführen. Hierdurch umgeht man den Gebrauch des einen Satzes von Rauchglasscheiben in der Nähe der Pupillen, der, wie auch aus Fig. 127 ersichtlich, je nach der Dicke eine Beeinträchtigung des Bildes, im vorliegenden Falle des Objekts, herbeiführen muss.

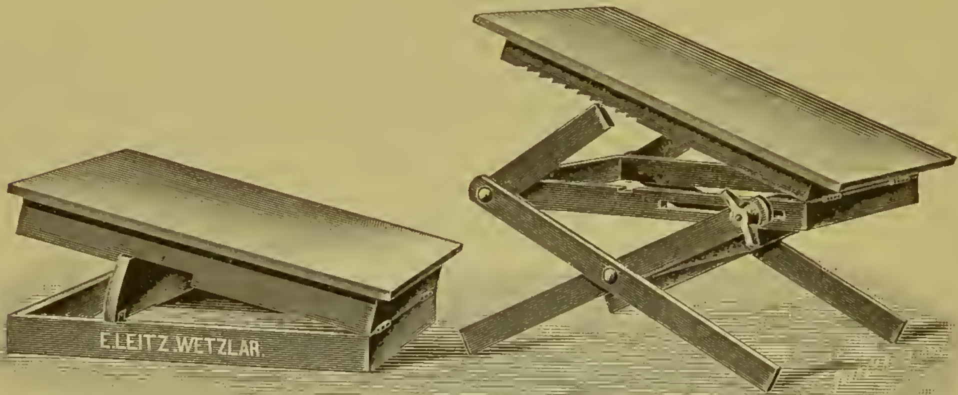
Der oben erwähnte Silberspiegel, der dasselbe noch einfacher und vortheilhafter erreichen lässt, ruft bei jedem neuen Ausgleich der Helligkeiten der beiden Sehfelder, der diesen die gleiche Deutlichkeit wieder verleiht, und zwar an beiden, eine Helligkeitsänderung und somit eine Veränderung der Gesammthelligkeit von dem halben Betrag derjenigen aller einseitig wirkenden Mittel hervor. Ohneweiters vermindert sich da-

durch um so viel die jedesmalige Adaption der Netzhaut, die dem Auge die grösste Sehschärfe nach dem Wechsel wiederverschafft und die Unannehmlichkeit aller Helligkeitsveränderungen abmildert.

Zum Ausgleich der Beleuchtung von Objekt und Zeichenfläche dienen auch Rauch-, bezw. Blauglasscheiben zwischen Mikroskopspiegel und Lichtkondensor, Verstellungen des letzteren gegen das Objekt, andererseits Verdunkelung, bezw. Aufhellung der Beleuchtung der Zeichenfläche, die sämmtlich bei der anfänglichen Einstellung zur Verwendung kommen.

Zur Koncentration der Aufmerksamkeit, zur Erzielung der grössten Sehschärfe und zur Schonung des Auges werden mit Vortheil Okularblenden mit rasch verkleinbarer Oeffnung verwendet (Messblenden mit verstellbarem quadratischen Querschnitt nach EHRLICH, Kompensationsokulare mit Irisblende nach HIS, gewöhnliche HUYGHEN'sche Okulare mit Irisblende nach COWL). Solche Blenden sind nach Beiseiteschlagen der Camera lucida von besonderem Nutzen beim Aufsuchen einer zu zeichnenden Stelle im Präparat und auch zur Lichtabblendung, namentlich bei kleinen Objekten im hellen Gesichtsfelde, die wie Bakterien oft das stärkste Licht und grösste Sehschärfe erfordern. Dagegen während des Zeichnens selbst, zumal bei Anwendung eines bildvereinigenden Apparates, fällt die Nothwendigkeit einer Okularblende aus oben angegebenen Gründen fort.

Fig. 134.



Das Zeichnen mikroskopischer Objekte erfordert kein anderes Mikroskop als die einfache Beobachtung allein. Am Stativ ist jedoch ein Tubus von grösserem als dem gewöhnlichen Querschnitt nebst weitem Okular von besonderem Vortheil, da sich hierdurch das Gesichtsfeld vermittels Blendenöffnens rasch bis zu einer zwei-, bezw. dreifachen der üblichen Ausdehnung vergrössern lässt.

Zur Abzeichnung von überaus breiten, bezw. langen Gebilden ist ein beweglicher Objekttisch insoweit vortheilhaft, als bei den Verschiebungen des Objekts die nothwendig erfolgenden Verschiebungen der Zeichenfläche sich leicht parallel halten.

Ein Zeichentisch, bezw. -pult mit nach vorn steigender Neigung bietet die Gelegenheit, in der bei der freien Handzeichnung, bezw. beim Feinmalen üblichen Weise benutzt zu werden, indem man denselben jenseits des senkrecht stehenden Mikroskops stellt. Es lassen sich hierbei Veränderungen der Entfernung der Zeichenfläche vom Auge durch Vor- und Rückwärtsschieben des Pults und somit die Verdeutlichung der Zeichenspitze bei verschiedener Sehweite wie auch durch Zuhilfenahme von Hilfslinsen Zeichnungen in verschiedenem Massstab mit gleicher Sicherheit

erzielen. Durch die Anwendung eines Zeichenapparates mit drehbarem seitlichen Spiegel, z. B. dem Reichert'schen Zeichenapparat mit Gradeintheilung wird in bequemer Weise eine Verzerrung des gezeichneten Bildes mit Sicherheit vermieden.

Das Zeichenmaterial besteht hauptsächlich aus mattglattem Papier und Karton und aus Graphit- wie farbigen Zeichenstiften von verschiedener Härte und zur leichteren Führung von ansehnlicher Länge und Dicke. Weniger oft werden Schreibfedern und dauerhafte Tinten benutzt. Für genaues Zeichnen ist eine Schreibfeder einem Bleistift vorzuziehen, da letzterer bald stumpf wird, sodann nicht mehr mit der gesehenen Spitze schreibt und ferner, indem das trockene Graphit immer nur grau glänzend, eine Schreibfeder dagegen, mit dunkler Tinte angefeuchtet, reflexlos schwarz erscheint und somit in hellem mikroskopischen Bilde des Objekts weit deutlicher ist.

Die Herstellung von Diaphanien, bezw. Diapositiven erfordert als Unterlage Glasplatten oder Gelatinefolien, die ersteren benöthigen eine vorherige Ueberschichtung mit Gelatine. Eiweiss, weissem Schellack oder dergleichen mehr. Zur Herstellung einer Zeichnung als Diapositiv lassen sich mit Vortheil Bromsilbergelatineglasplatten verwenden, die eine matte, hellfarbige Oberfläche bieten, welche die feinste Zeichnung mit Bleistift, bezw. wasserunlöslicher Tinte aufnimmt, worauf das Bromsilber, das die weissliche Undurchsichtigkeit bedingt, durch ein Bad von thioschwefelsaurem Natron und darauffolgende Wasserbäder vollkommen entfernt werden kann.

Das Endresultat des mikroskopischen Zeichnens ist die Zeichnung, die sich immer einer Beurtheilung unterzieht und eine zweckmässige Aufbewahrung verdient. Das letztere verlangt von vornherein ein in Farbe und Festigkeit dauerhaftes Leinenpapier im Gegensatz zu dem geringen Holzpapier, das sich am Licht, namentlich an der Luft bräunt und brüchig wird. Zeichnungen für den Handgebrauch wie auch für dauernde Wandaufhängung sind gegen Fett, Staub und Feuchtigkeit durch Bestreichen mit verdünntem, durchsichtigen Zaponlack zu schützen.

Eine ganz genaue geometrische Wiedergabe eines mikroskopischen Gebildes im grossen und im kleinen ist selten erforderlich, in diesem Falle aber darf bei Inanspruchnahme des ganzen Gesichtsfeldes des Mikroskops weder Zeichenapparat mit Prisma, bezw. Würfel, noch ein starkes Okular benutzt werden. Bei der Wiedergabe der Einzelheiten mikroskopischer Objekte fällt diese Einschränkung im allgemeinen fort.

Litteratur: W. Behrens (Behrens, Kossel und Schiefferdecker) (Das Mikroskop), W. B. Carpenter (The Microscope and its Revelations, 6. ed., London 1881), L. Dippel (Das Mikroskop u. seine Anwendung, 2. Aufl., Braunschweig 1882), S. H. Gage (The Microscope and microscopical Methods, 5. ed , Ithaca 1894), C. Naegeli und S. Schwendener (Das Mikroskop, 2. Aufl., Leipzig 1877), Zimmermann (Das Mikroskop, Wien 1895).

Cowl, Berlin.

Zellbrücken siehe Intercellularbrücken und -Lücken.

Zellchemie.

Die Chemie der Eiweisskörper, das bei weitem dunkelste Gebiet der physiologischen Chemie, beginnt erst eben der Chemie der Zelle selbst dienstbar gemacht zu werden. In den wenigsten Fällen ist es bisher gelungen, die aus pflanzlichen oder thierischen Zellkomplexen isolirten verschiedenartigen Eiweisskörper, die fundamentalen Baustoffe der Zelle, in ihr, resp. in ihren Organen, wie Plasma, Zellkern etc. zu lokalisiren. Andererseits sind die bisher dargestellten Eiweisskörper sicherlich vielfach nur Bruchstücke der komplicirten Verbindungen der lebenden Zelle. Mikrochemisch relativ einwandsfrei verfügen wir eigentlich nur über Gruppenreaktionen von Eiweissstoffen (s. Eiweissstoffe der Pflanzenzelle), während kaum von der mikrochemischen Identificirung auch nur eines speciellen Eiweissstoffes in der Zelle gesprochen werden kann. Die mannigfachen Versuche, auf mikrochemischem Wege in die Zellchemie einzudringen, mussten sich bisher im wesentlichen darauf beschränken, die Unterschiede im Verhalten einzelner Plasmapartien gegen einander festzustellen, entweder unter

Verzicht jeder eigentlich chemischen Analyse, resp. Identificirung mit makroskopisch dargestellten Eiweisskörpern (Mikrochemische Reaktionen morphologischer Natur) oder aber unter Zuhilfenahme makrochemischer Untersuchungen, wobei dann diese oder jene Eiweisskörper als Hauptbestandtheile eines Zellorganes angesprochen wurden. Vor der Schilderung der einzelnen mikrochemischen Methoden scheint es weiter erforderlich, ganz kurz auf die hauptsächlichsten makrochemischen Reaktionen der Eiweisskörper, die Methoden ihrer Untersuchung und ihre Systematik einzugehen, und zwar nur insoweit, wie es zum Verständniss jener unumgänglich erforderlich erscheint oder für die Ausarbeitung neuer Methoden nicht ausser Acht zu lassen sein dürfte. Die mikrochemischen Reaktionen werden so abgehandelt, dass zuerst der Nachweis der für einige Eiweissstoffe charakteristischen Elemente Phosphor und Eisen beschrieben, dann die Hauptmethoden der eigentlichen Eiweissuntersuchung als Fällungs-, Lösungs- und Färbungsanalytische Methoden behandelt werden.

Makrochemie (vielfach nach Cohnheim 1901[1]). Alle Eiweissstoffe besitzen ein sehr hohes Molekulargewicht, das zwischen 1000 und 10.000 berechnet worden ist. Damit verbunden sind die leichten molekularen Umlagerungen. So ist eine Haupteigenschaft aller Eiweissstoffe ihre Neigung, aus ihren Lösungen in einen unlöslichen, aber quellbaren Zustand überzugehen, zu koaguliren und zu denaturiren, doch können auch Eiweissstoffe wenigstens anfänglich in unverändertem löslichen Zustand aus ihren Lösungen gefällt werden. — Mit am leichtesten erfolgt die Koagulation durch Erhitzen der Lösung, und zwar bei einer für jeden Eiweisskörper charakteristischen Koagulationstemperatur. Ihre analytische Ausnutzung wird dadurch erschwert, dass ebenso wie bei allen anderen Koagulationserscheinungen die Reaktion der Lösung und der Gehalt derselben an Salzen wesentlich in Betracht kommt. Ist die Reaktion stärker sauer oder alkalisch, so bleibt stets ein mehr oder weniger grosser Theil in Lösung, während im Wasser oder in neutraler oder schwachsaurer Salzlösung alles Eiweiss unlöslich wird. Dies ist wahrscheinlich so zu erklären, dass in der That sämmtliches in Lösung befindliches Eiweiss denaturirt wird, sich aber bei höherer Temperatur mit den Säuren oder Salzen der Lösung zu Acidalalbumin und Alkalialbuminat verbindet (s. unten), die beide löslich sein können. So ist auch zu verstehen, dass beim Einbringen von Kalk (Baryum, Strontium) in solche alkalische »koagulirte« Lösung ein Ausfallen stattfindet, da das sich bildende Kalkeiweiss viel weniger löslich ist. Dass die Anwesenheit von Salzen das Ausfallen des koagulirten Eiweisses aus anscheinend neutralen Lösungen begünstigt, ist wahrscheinlich so zu verstehen, dass durch die geringe anwesende Säure das Eiweiss in das lösliche Acidalalbumin verwandelt und dann durch die Salze gefällt wird. Dies ist deshalb so schwer zu entscheiden, weil durch das hohe Molekulargewicht des Eiweisses nur sehr geringe Mengen des anderen Komponenten nöthig sind, neutrale Verbindungen mit dem Eiweiss zu bilden. Weiter findet eine Denaturirung des Eiweisses durch die meisten seiner Fällungsmittel statt, durch Säuren, Metallsalze, Chloroform, Aether, Formaldehyd, metallisches Silber und spielt hier in gleicher Weise wie bei der Wärmekoagulation die Reaktion der Lösung und die Anwesenheit von Salzen eine Rolle. Weiter denaturirt immer nach kürzerer oder längerer Zeit das ausgefällte, also nicht in Lösung befindliche Eiweiss.

Bei der einfachen Ausfällung des Eiweisses bleibt es wenigstens anfangs löslich und behält alle seine sonstigen Eigenschaften. Für die mikrochemischen Untersuchungen das bei weitem wichtigste Fällungsmittel ist der Alkohol, der nur bei Salzgegenwart ziemlich rasch das Eiweiss denaturirt. Löslich in Alkohol sind nur Glutinfibrin (Weizenmehl) und Zeïn (Maismehl) (Kossel und Kutscher[2]). Weiter kann ein Ausfällen schon durch Schütteln der Lösung oder durch Oberflächenwirkung, etwa durch Eintragen von gebranntem Thon oder Thierkohle in die Lösungen, hervorgerufen werden. Diese Oberflächenattraktion bewirkt umgekehrt, dass Eiweiss einerseits beim Ausfällen viele mit in Lösung befindliche Stoffe mitreisst, andererseits im

ungelösten Zustand einfach durch Berührung auf sich niederzuschlagen vermag. Diese Eigenschaft spielt für die Theorie der Färbungen eine grosse Rolle und hat in der technischen Färberei im Animalisiren seine Anwendung gefunden (s. pag. 319). Sie erschwert auch erheblich die Reindarstellung der Eiweisskörper. Aehnlich vermag das Eiweiss sonst unlösliche Körper mit in Lösung zu halten. — Das Ausfällen der Eiweisskörper zum Zwecke der Reindarstellung und chemischen Identificirung geschieht aber am häufigsten mittels des Aussalzens. Die Eiweisskörper lassen sich nämlich wie viele andere Körper hohen Molekulargewichts von gewissen Salzen durch Entziehung des Lösungsmittels aus ihren Lösungen verdrängen. Da dies nun für die einzelnen Eiweisskörper sehr verschieden gut geschieht, andererseits die Salze eine sehr verschiedene Fähigkeit zum Aussalzen besitzen, ist in dieser Methode eine gute Unterscheidung und Trennung der Eiweissstoffe gegeben. Die Reihenfolge der Salze würde etwa diese sein: Leicht aussalzbare Stoffe werden durch Natriumchlorid, -sulfat, -acetat und -nitrat ausgefällt. Etwas wirksamer ist Magnesiumsulfat, das, da es eine scharfe Grenze zwischen den schwer und leichter aussalzbaren Eiweissstoffen gestattet, häufig angewendet wird. Es folgen Kaliumacetat, Calciumchlorid und Calciumnitrat, die beiden letzteren koaguliren indes das Eiweiss sehr rasch. Am wirksamsten ist schliesslich Ammoniumsulfat und Zinksulfat. Es ist bemerkenswerth für eventuelle mikrochemische Anwendung, dass alle gut fällenden Salze, besonders Sulfate, von den Zellen schwer aufgenommen werden. Weiter hat sich gezeigt, dass die leicht aussalzbaren Eiweissstoffe von gut aussalzenden Salzen schon bei niederer Koncentration ausgefällt werden, so zwar, dass bei einem bestimmten Koncentrationsgrad die Ausfällung beginnt, bei einem anderen vollendet ist, und dass die so entstehenden Gruppen die gleichen sind, wie sie durch die Fällbarkeit in den verschieden stark aussalzenden Salzen gebildet werden. So entspricht z. B. ungefähr eine konc. Kochsalzlösung und eine konc. Magnesiumsulfatlösung einer halb konc. Ammoniumsulfatlösung. Am leichtesten aussalzbar sind die komplicirt gebauten Eiweissstoffe Fibrinogen, Kaseïn und andere Nukleoalbumine, es folgen die Globuline und primären Albumosen, schliesslich die Albumine und Deuteroalbumose. Erscheint auch der Eiweissstoff, je komplicirter er gebaut, desto leichter aussalzbar, zeigt doch die als ihr Spaltungsprodukt einfacher wie die Albumine gebaute primäre Albumose, dass dies nicht ausnahmslose Gültigkeit hat. Auch für die Aussalzung ist entsprechend wie für die Koagulation die Reaktion der Lösung von Wichtigkeit.

Zwischen der eigentlichen mit Denaturirung verbundenen Koagulation des Eiweisses und der Fällung steht der Zustand der Gerinnung. Unter dem Einfluss von Fermenten werden eine Reihe von Eiweissstoffen chemisch verändert und aus ihren Lösungen ausgefällt, wie Fibrinogen, Kaseïn und gewisse andere zellplasmatische Körper. Aus diesem Zustand können sie dann weiter durch die gewöhnlichen Mittel in den koagulirten überführt werden. Die Gerinnung ist für mikrochemische Zelluntersuchungen wichtig, da beim Absterben der Zellen ein Theil der Eiweisskörper (durch Fermente?) in solchen geronnenen Zustand übergeht.

Die charakteristische allgemeine chemische Eigenschaft des Eiweisses ist sein Verhalten gegen Säuren und Basen, seine Eigenschaft als »Pseudosäure« und »Pseudobase« (Hantzsch). Obgleich selbst weder Säure noch Base, hat das Eiweiss die Fähigkeit, mit Basen und mit Säuren Salze zu bilden, oder, anders ausgedrückt, obgleich es in der neutralen Lösung nicht ionisirt, zwei verschiedene elektrische Ladungen besitzt, wird es ionisirt, sobald es mit anderen Ionen in Berührung tritt. So besitzt es oft eine neutrale Reaktion, die aber auch beim Zusatz starker Säuren und Basen neutral bleibt. Dass

es sich weiter um keine einfache Salzbildung handelt, zeigt z. B. der Umstand, dass beim Zusatz einer bestimmten Säuremenge, die geeignet wäre, sämmtliche alkalische Affinitäten zu sättigen, keine völlige Sättigung stattfindet, sondern erst bei einem bestimmten Säureüberschuss. Unbeschadet dieser allen Eiweissstoffen zukommenden sauerbasischen Eigenschaft kann aber auch der saure oder basische Charakter so überwiegen, dass dadurch die Reaktion des freien Eiweisses bestimmt wird. »In dieser Hinsicht sind nun die Nukleoalbumine und Mucine ausgesprochene Säuren, die durch Säuren gefällt werden, sich in Alkalien sehr leicht lösen, Kohlensäure austreiben und Lackmuspapier röthen. Dasselbe gilt in schwächerem Masse von dem Globulin und wieder sehr deutlich von den Nukleoproteïnen, die als Paarlinge der Nukleïnsäure eine ziemlich starke Säure enthalten. Die Albumine scheinen neutral oder schwach alkalisch zu reagiren. Dagegen sind die Histone basische Körper, die durch Alkalien gefällt werden und sich in Säuren lösen. Noch stärker basisch sind die in ihrem Bau abweichenden Protamine, beide bilden als Salze der Nukleïnsäure manche Nukleoproteïde. Die Albumosen enthalten sowohl saure wie basische Substanzen, ihr Gemenge reagirt in der Regel schwach alkalisch. Die Flüssigkeit des thierischen Körpers, wie das Protoplasma, reagirt stets schwach alkalisch, doch hängt dies von den darin enthaltenen kohlensauren Salzen ab.« Diese Aciditätsunterschiede der einzelnen Eiweisskörper sind es auch, welche, wie wir sehen werden, ausschliesslich die Möglichkeit färbungsanalytischer mikrochemischer Reaktionen bedingen. — Das Eiweiss scheint immer als zweibasische Säure und mehrsäurige Base zu wirken. Die Basenkapacität des Serumalbumins ist z. B. 61,4, seine Säurenkapacität 114,5 NaOH.

Sind die Salze des Eiweisses unlöslich, so dienen sie als Fällungsreaktion. Gleichzeitig sind sie die in der Fixirungstechnik in Betracht kommenden Verbindungen, ohne aber dass gute Fällungsreaktion auch gute Fixirung zu sein braucht. (Vergl. Fixation.) (Die auch in der Fixirungstechnik gebrauchten Reagentien sollen im folgenden gesperrt gedruckt werden.) Als Säure figurirt das Eiweiss in den unlöslichen Salzen, die es mit den Schwermetallen bildet. Die Fällungen sind vollständig und im Ueberschuss in der Regel unlöslich, wohl aber bei manchen Albumosen, die überhaupt viel schwerer fällbar, resp. leichter löslich sind als die eigentlichen Eiweisse. Myogen der Muskel wird nur in Gegenwart von Alkalisalzen gefällt, nicht gefällt wird Hämoglobin. Es werden gebraucht: Eisenchlorid und -acetat, im Ueberschuss wieder lösend (primäre, nicht Deuteroalbumosen fällend und im Ueberschuss lösend), Quecksilberchlorid, vollständigstes Fällungsmittel (auch für die letzten eiweissartigen Spaltungsprodukte: Pepton), Bleiacetat (basisch und saures), Zinkacetat, Platin-Kobaltsalze etc. Nach HEIDENHAIN 1902 [3]) und pag. 349 scheint das Eiweiss weiter als Säure zu wirken bei einem Theil der Fällung mit basischen Anilinfarben und soll es sich dabei um wirkliche Bildung von Albuminaten handeln, nicht etwa um Aussalzungen (FISCHER [4]). Abgesehen von der Bildung von Albuminaten mit freien Farbbasen, z. B. Rosanilin, tritt das Eiweiss mit den freien Amidogruppen stark basischer ungespaltener Farbsalze, z. B. Neufuchsin und Methylviolett in Reaktion, voraussichtlich ist dies noch mehr für die stärker sauren Eiweissstoffe der Fall, besonders bei den Nukleoproteïden, wenigstens giebt das Spaltungsprodukt, die freie Nukleïnsäure, mit allen basischen Farbsalzen Fällung (FISCHER [4]], HEIDENHAIN [3]), ebenso wie mit den freien Farbbasen. — Als Base figurirt das Eiweiss in seinen unlöslichen Salzen mit starken Mineralsäuren: Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure, ähnlich bei den unlösliche Fällungen mit Nukleïnsäure, Chondroitinschwefelsäure und ähnlichen Proteïden bildenden Substanzen. Weiter wird das Eiweiss als komplicirte organische Base durch eine Reihe von Reagentien gefällt, welche

als Alkaloidreagentien zusammengefasst werden, und zwar nur in saurer Lösung, da die Eiweissstoffe meist erst durch die Säure zu genügend starken Basen werden. Bei alkalischer Reaktion lösen sich die Niederschläge wieder auf, abgesehen von dem stärker basischen Eiweiss, den Histonen und Protaminen. Im Ueberschuss des Fällungsmittels sind nur die Abbauprodukte des Eiweisses, Peptone und ein Theil der Albumosen löslich. Die wichtigsten Reagentien sind Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Gerbsäure, Kaliumquecksilber-, -wismut- und -kadmiumjodid, Ferrocyanwasserstoffsäure (gewöhnlich in Form von Essigsäure und Ferrocyankalium), Trichloressigsäure, Pikrinsäure; wenig gebraucht für makrochemische Zwecke, dagegen vielfach für mikrochemische sind Osmiumsäure und Kaliumbichromat. HEIDENHAIN[3]) zeigte jüngst (auch diese Encyklopädie, pag. 346), dass ebenso in saurer Lösung auch die sauren Farbsalze, deren färbendes Princip eine Farbsäure ist, unlösliche Fällungen hervorrufen. — Dass der fällende Alkohol sehr bald denaturirt, wurde schon erwähnt. Die Fällungskraft der für die Fixirung wichtigen Färbungsmittel wurde von FISCHER[4]) an drei Testobjekten, Serumalbumin als eigentlichen Eiweisskörper, Deuteroalbumose als relativ weitgehendes Abbauprodukt (s. u.) und Nukleïnsäure als wichtig im Hinblick auf den Zusammenhang mit dem Chromatin makrochemisch erprobt und daraufhin folgende drei Klassen aufgestellt, die sich im wesentlichen mit dem bei makrochemischem Gebrauch Erprobten decken:

1. Serumalbumin wird sowohl aus alkalischen als sauren Lösungen gefällt, Deuteroalbumose wird gar nicht, Nukleïnsäure wird nicht oder nur durch starke Koncentration gefällt. Salpetersäure, Essigsäure und damit gesäuerter Alkohol. Unzuverlässige Fällungsmittel, die im Ueberschuss wieder lösen.

2. Serumalbumin und Deuteroalbumose werden nur aus sauren, nicht aus alkalischen (oder neutralen) Lösungen, Nukleïnsäure wird gar nicht gefällt. Die Niederschläge sind unlöslich.

Osmiumsäure, Kaliumbichromat, ALTMANN's Gemisch, MÜLLER'sche Lösung.

3. Serumalbumin, Deuteroalbumose und Nukleïnsäure werden bei jeder Reaktion gefällt.

a) Serumalbumin wird koagulirt; die Fällung der Deuteroalbumose und der Nukleïnsäure ist in Wasser leicht löslich.

Alkohol, Aceton, Pikrinsäure, Pikrinschwefelsäure.

b) Alle Fällungen in Wasser unlöslich.

Chromsäure, Sublimat, Platinchlorid, Formaldehyd, FLEMMING's Gemisch (Chromosmiumessigsäure), HERMANN's Gemisch (Platinchloridosmiumessigsäure).

Hier würden sich noch die meisten Gemische anschliessen, z. B. Chromessigsäure, Chromameisensäure, Chromsäureplatinchlorid, Sublimatessigsäure. (Vergl. über die Einzelheiten der Wirkung die betreffenden Artikel.)

Keineswegs sind nun aber die Acidalbumine und Alkalialbuminate immer unlöslich. Wir sahen schon oben, wie bei der Koagulation im Gegentheil solche Salze denaturirten Eiweisses löslicher sein können als das Eiweiss selbst. Kann auch hier nicht auf die Löslichkeit dieser Eiweisssalze, ihre Aussalzbarkeit durch Neutralsalze etc. eingegangen werden, erfordert doch die sogenannte Gelatinirung Interesse, da vielleicht manche Erscheinungen bei der Fixirung, z. B. das Homogenwerden der Kerne und des Plasmas, hierher gehören. Lässt man auf eine Eiweisslösung Alkalien oder Säuren ziemlich hoher Koncentration einwirken, so verwandelt sich die Flüssigkeit in eine mehr oder weniger steife Gallerte; möglicherweise wird nur ein Theil des Eiweisses, das Antialbumin, so ausgeschieden. Die Erscheinung ist von der Koncentration der Säure, ebenso wie von der Temperatur und dem Salzgehalt sehr abhängig. (Das für die bakteriologische Technik von KOCH eingeführte denaturirte Blutserum ist ein bei 65 Grad erstarrtes Alkalialbuminat.) Albumine und Albuminate zersetzen sich oft schnell unter Ammoniak- und Schwefelwasserstoffabspaltung, wobei die Wirkung der Alkalien meist viel energischer ist. So gelingt es auch meist leicht, Alcidalbumin in Alkalialbuminat umzuwandeln, aber nicht umgekehrt. Verbindungen des Eiweisses, die keine Salze sind, sind die Halogeneiweisse. Sie scheinen in der Natur nicht vorzukommen. — Das Eisen kommt wohl nur in der Verbindung mit der prostetischen Gruppe vor. Einen Einblick in die Konstitution der Eiweisse haben die Zersetzungsmethoden mit Hilfe von kochenden Säuren, überhitztem Wasserdampf, kochenden Alkalien und schmelzendem Alkali, Verdauung durch proteolytische Fermente und Bakterien gegeben. Ist es auch besonders bemerkenswerth, dass sich der bei weitem grösste Theil der Abbauprodukte in allen Eiweisskörpern vorfindet, wenn er auch in quantitativem Verhältniss grosse Verschiedenheiten aufweist, so sind doch einzelne Abbauprodukte für einzelne Eiweissarten be-

sonders charakteristisch; mögen sich auch, wenn erst feinere Methoden für den mikrochemischen Nachweis dieser Zersetzungsprodukte ausgearbeitet, hieraus Rückschlüsse auf die Natur der Eiweisskörper selbst ziehen lassen, so liegen jetzt in dieser Richtung noch keine Versuche vor. — Es mag hier genügen, auf KOSSEL's[5]) übersichtliche Zusammenstellung (über den gegenwärtigen Stand der Eiweisschemie) hinzuweisen. Seit langem ist die Bildung von Harnstoff aus Eiweiss beim Kochen mit Barytwasser bekannt. Als diese harnstoffbildende Gruppe wurde die Guanidinaminovalleriansäure gleich Arginin erkannt. Arginin zusammen mit zwei anderen Diaminofettsäuren, dem Lysin, Diamidokapronsäure und dem Histidin unbekannter Konstitution scheinen ein wesentlicher Bestandtheil jeden Eiweisses zu sein und werden wegen ihrer sechs Kohlenstoffatome als Hexonbasen zusammengefasst. Da ihre Quantität wesentlich die basischen Eigenschaften des Eiweisses zu bestimmen scheinen, mögen einige Angaben über Arginin in Gewichtsprocenten folgen. Es enthalten Salmin 84,3, Histon (Thymusdrüse) 14,36, Syntonin 5,6, Kaseïn 4,7, Leim 1,82. Der Stickstoff scheint im Eiweiss überhaupt nur in Form von Amidogruppen, nicht als Nitro-, Nitroso- oder Azostickstoff vorzukommen. Die Monamidogruppen des Eiweisses sind sehr mannigfaltig. Neben dem Glykokoll = Aminoessigsäure tritt besonders das Leucin = Aminobutylessigsäure in hohem Procentsatz unter den Spaltungsprodukten auf. Wichtiger als das Alanin = α-Amidopropryonsäure sind seine Derivate, das Cystin als die Haupt- wenn nicht einzige schwefelhaltige Gruppe und das einen aromatischen Kern enthaltende Phenylalanin. Phenyl α amidopropyonsäure und das um ein 0 (Paroxyd) reichere Tyrosin, ein sehr charakteristisches Eiweissspaltungsprodukt, der Träger der MILLON'schen Reaktion und daher in der Mikrochemie vielfach mit dem eigentlichen Eiweiss verwechselt (als Sphärokrystalle z. B. sehr reichlich in Lupinus albus bei ungenügender Athmung) (BERTEL[6]] 1902). Weiter sind wichtig die Asparaginund Glutaminsäure; die furfurolbildende Substanz des Eiweisses rührt vielleicht von einem Kohlenhydrat her. Nicht näher bekannt sind die skatol- und indolbildenden Gruppen, weiter die bei Trypsinverdauung, aber auch bei Säurespaltung entstehenden Proteïnchromogene: Tryptophan. Ausser diesen geschilderten Spaltungsprodukten, die wenigstens zum grossen Theil an und für sich ihre Herkunft vom Eiweiss nicht mehr vermuthen lassen, lassen sich vom Eiweiss noch grössere Atomkomplexe abspalten, die mit dem eigentlichen Eiweiss noch eine Reihe gemeinsamer Reaktionen besitzen: die Albumosen und Peptone. Ihr Hauptunterschied vom Eiweiss besteht darin, dass sie nicht mehr koagulirt werden können, so bleiben sie auch in Alkoholfällung stets in Wasser löslich, ausser der auch sonst in etwas koagulirenden Heteroalbumose. Weiter sind sie viel löslicher und werden weit schwerer von fällenden Substanzen ausgeschieden: Albumosen im Sinne KÜHNE's; zum Theil: Peptone im Sinne KÜHNE's, können sie überhaupt nicht mehr ausgesalzen werden. Gemeinsam mit dem Eiweiss sind ihnen zumal ihre sauer-basischen Eigenschaften, indem sie sowohl als Säuren mit Metallsalzen unlösliche Verbindungen einzugehen, auch Calcium- und Baryumsalze zu bilden vermögen, welche durch Kohlensäure nicht zerstört werden, als Basen mit den Alkaloidreagentien reagiren, jedoch meist schwerer fällbar als Eiweiss sind, je schwerer je weiter sie in ihrer Konstitution von jenen entfernt sind. Die Albumosen werden durch Ferrocyankalium und Essigsäure gefällt (Anwesenheit von Pepton kann die Reaktion stören) durch Salpetersäure (beim Erwärmen verschwindet der Niederschlag, kehrt beim Erkalten wieder), im Ueberschuss löslich durch Sublimat, Platinchlorid, Eisenchlorid und Bleisalz. Die Unterscheidung der einzelnen Albumosen geschieht im allgemeinen nach ihrer Aussalzbarkeit. Die primären Albumosen werden durch Kochsalz, und zwar die Heteroalbumosen, die dem Eiweiss noch am nächsten stehen, bei neutraler, die Protalbumosen vollständig erst bei saurer Reaktion ausgeschieden. Erstere ist in Wasser, letztere nur in Salzlösungen löslich, mit Kupfersulfat und -acetat geben sie Niederschläge. Die Deuteroalbumosen sind nicht mit Kochsalz, sondern erst durch Ammon und Zinksulfat aussalzbar und geben mit Kupfersulfat keine Fällung. Die durch keine Salze aussalzbaren Peptone werden durch Salpetersäure, Ferrocyanwasserstoff, Kupfer und Eisensalz nicht gefällt, dagegen durch Bleisalze, ebenso durch Sublimat (besonders reichlich), Platinchlorid, Osmiumsäure, HERMANN'sches Gemisch, nicht durch FLEMMING'sches Gemisch (FISCHER[4]). Diese Produkte treten in der geschilderten Reihenfolge bei der Pepsinverdauung auf, die nie weiter als bis zu den Peptonen geht, während bei der Trypsinverdauung die viel weitergehenden Abbauprodukte gebildet werden.

Systematik. Es sollen im folgenden nur diejenigen eigentlichen oder genuinen Eiweisskörper kurz charakterisirt werden, welche für die Chemie der Zelle wesentlich in Betracht kommen.

Die Albumine, die relativ am besten bekanntesten und durch ihre Krystallisirbarkeit rein darstellbaren Eiweisskörper sind wesentlich nach drei Herkünften bekannt, als Serum-, Eier- und Milchalbumin. Sie sind im Wasser löslich, ebenso in verdünnten Säure-, Alkali- und Salzlösungen. Sie sind schwer aussalzbar (nicht durch $NaCl$ oder $MgSO_4$ aus neutraler Lösung). Ihr Verhalten gegen fällende Reagentien ist das Typische. Ihre Säurenkapacität übertrifft ihre Basenkapacität erheblich.

Die Globuline unterscheiden sich von den Albuminen dadurch, dass sie im reinen Wasser nicht oder schwer löslich sind; sie sind nur in verdünnten neutralen Salzlösungen löslich und werden aus ihnen durch Dialyse gefällt. Sie werden auch gefällt durch Ansäuern der Lösung, was mit ihrer Säurenatur in Zusammenhang zu stehen scheint, wenn dieselbe auch schwächer ist, als die der Nukleïne sind (sie reagiren auf Lackmus sauer). Sie sind sehr leicht

koagulirbar; durch $MgSO_4$ werden sie ausgesalzen. Globulinkrystalle sind nicht bekannt. Von den Nukleoalbuminen unterscheiden sie sich im wesentlichen durch den Mangel an Phosphor. Globuline werden gewonnen aus Serum, Krystalllinse, Eier, Milch, als eigentliche Zellglobuline aus Nieren, Leber und Leukocyten. Die Phytoglobuline stehen den Phytovitellinen = Nukleoalbuminen so nahe, dass sie erst im Zusammenhang mit ihnen erwähnt werden sollen.

Die gerinnenden Eiweisskörper, die in ihrem sonstigen Verhalten den Albuminen und zumal den Globulinen nahestehen, zeigen die Eigenschaft, beim Stehen spontan zu gerinnen. Es geschieht dies unter dem Einfluss von Fermenten, die aus zerfallenden Körperzellen entstehen. Doch ist die Abhängigkeit des Vorganges der Fermentation von anderen Substanzen zumal Kalksalzen und anderen Umständen keineswegs aufgeklärt. Letzte Darstellung für Fibrin (Hammarsten, Zeit. Phys. Chem., 22, 1896, 28, 1898). Am besten bekannt ist der gerinnende Stoff des Blutplasmas, das Fibrinogen, das die allgemeinen Eigenschaften der Globuline zeigt. Die gerinnenden Substanzen der Muskeln, Myosin und Myogen sind durch ihre grosse Löslichkeit in Säuren und den leichten Uebergang in Acidalbumine ausgezeichnet; während das Myosin seinen sonstigen Eigenschaften nach mehr dem Globulin nahesteht, ähnelt das Myogen dem Albumin. Inwieweit der Kleber der Getreidekörner hierher gehört, ist noch nicht festgestellt. Auch liegen Untersuchungen über die gerinnende Substanz des Zellplasmas noch nicht vor, wenn sie auch vielleicht einem gerinnenden Nukleoalbumin nahesteht.

Von allen bisher gekennzeichneten Eiweissstoffen unterscheiden sich die Nukleoalbumine durch den Gehalt an P. Sie wurden deshalb früher mit den Nukleoproteïden vereinigt, von denen sie sich jedoch scharf durch das Fehlen der Xanthinbasen unter ihren Spaltungsprodukten unterscheiden. Auch die Nukleïnsäure fehlt ihnen, ebenso wie das zumeist aus Nukleoproteïden zu gewinnende Kohlenhydrat. Bei der Verdauung durch Pepsin und Salzsäure wird, während die Hauptmenge des Eiweisses in Lösung geht, in einem gewissen Stadium ein unlöslicher Komplex: das Paranukleïn Kossel's (resp. das Pseudonukleïn Hammarsten's) abgeschieden, das ganz nach der Wirksamkeit des Pepsins entweder nur ganz vorübergehend entsteht oder dauernd reichlich erhalten bleibt. Es ist nicht, wie ursprünglich vermuthet wurde, mit der nach Abspaltung der Xanthinbasen aus der Nukleïnsäure verbleibenden Thyminsäure in Verbindung zu bringen, auch ist über die Art der P-Bindung in ihm nichts bekannt, wenn es auch vermuthlich eine Verbindung von Eiweiss und Phosphorsäure darstellt. Um zum Ausdruck zu bringen, dass diese Körper mit den Nukleoproteïden der Kerne gar nichts zu thun haben, wird vorgeschlagen (Cohnheim[1]), sie etwa Phosphorglobuline zu nennen. Die Körper sind ausgesprochene Säuren (röthen Lackmuspapier), sind im Wasser unlöslich, dagegen leicht in Form ihrer Salze mit Alkalien und Ammoniak. Durch Säuren werden sie aus diesen Lösungen frei gemacht und gefällt, durch Mineralsäuren in sehr geringer, durch Essigsäure in höherer Koncentration und im Ueberschuss wieder gelöst. Da die Lösungen ihrer Salze nicht koagulirbar sind, können sie ohne Veränderung gekocht werden. Beim Liegen in ungelöstem Zustand werden sie nicht verändert, sie sind relativ resistent gegen Säuren, durch Alkalien werden sie dagegen sehr leicht verändert. Sie sind sehr leicht aussalzbar. Zu dieser Gruppe gehören als wichtigste Vertreter das Kaseïn, z. B. aus Milch, das Vitellin aus dem Eidotter der Hühnereier (Ovovitellin), wahrscheinlich das Ichthyolin aus den Fischeiern und eine Reihe von Zellnukleoalbuminen aus Organextrakten der Niere, der Lymphkörperchen, Leber etc. Besonders bei letzteren ist die Unterscheidung mit den aus den Zellkernen stammenden Nukleoproteïden nicht immer leicht, da sie auch immer Fe enthalten sollen. Auch giebt es Nukleoalbumine, welche sich genau wie die eigentlichen Schleime: Mucine und Mukoide verhalten, d. h. mit neutralen Ammoniak- oder Alkalisalzen sehr zähe fadenziehende Flüssigkeiten bilden, z. B. aus der Schleimhaut der Nieren. Besser bekannt als diese Nukleoalbumine sind die schon lange von den Nukleoproteïden unterschiedenen phosphorhaltigen Reserveeiweissstoffe der Pflanzen: Liebig's Pflanzenkaseïne, z. B. Konglutin, Gluteïnkaseïn (Weizen). Doch hat man noch keine Klarheit darüber gewonnen — ausser etwa für das Legumin, das bei der Pepsinverdauung ein typisches Paranukleïn bildet —, ob der stets gefundene P zum Molekül des Eiweisses gehört oder als Calciumphosphat eine Aschenbeimengung bildet. Sie sind saure Eiweisskörper und stimmen in ihrem Verhalten im wesentlichen mit den Globulinen überein. Als ein spontan, resp. unter der Einwirkung eines Fermentes gerinnendes Phosphorglobulin wird der den Kleber im Weizen bildende Eiweissstoff angesehen. Auch sie sind oft in physiologischen Untersuchungen mit den Nukleoproteïden verwechselt worden, was dann weiter zu unbewiesenen Ansichten über die Reservestoffnatur des Chromatins führte, z. B. Iwanoff[7]) 1902.

Den bisher gekennzeichneten, mehr oder weniger neutral oder stärker sauren Eiweissstoffen stehen die mit stärker basischem Charakter gegenüber: die Histone und Protamine. Als solche werden sie durch Alkalien gefällt, aber im Ueberschuss wenigstens die meisten von ihnen wieder aufgelöst. In Säuren, zumeist auch in Wasser, sind sie leicht löslich, durch die Alkaloidreagentien werden sie schon in neutraler Lösung gefällt, die stärker basischen Protamine sogar bei alkalischer Reaktion. Letztere bläuen auch deutlich Lackmuspapier. Neutrale Lösungen geben mit salzarmen Lösungen anderer Eiweissstoffe (Ovalbumin, Kaseïn und Serumglobulin) Niederschläge. Diese Körper kommen als solche in der Natur nicht frei vor, sondern nur gepaart mit einer prosthetischen Gruppe und bilden

als solche Körper, welche zu den wichtigsten Zellbestandtheilen gehören, wie das Hämoglobin, einige Nukleoproteïde, z. B. in den Leukocyten der Thymusdrüse und andere. Der wahrscheinliche direkte Nachweis (aus dem Nukleoproteïd) im Zellkern durch diese Reaktionen würde zu den wenigen mikrochemisch möglichen direkten Eiweissunterscheidungen gehören (S. Hilaire[8]). Als Nukleoproteïde sind die Histone aus den unreifen Hoden von Fischen und anderen niederen Thieren gewonnen worden: Skombron, Aberzon, Salmon, während in den reifen die aus ihnen auch genetisch entstehenden Protamine: Salmin, Sturin, Clupeïn ihre Stelle einnehmen. Letztere sind deshalb noch von Bedeutung, weil sie die einfachsten bisher bekannt gewordenen Eiweissstoffe und als solche als Kerngruppe jeden Eiweisses angesehen werden. (Kossel's Protamintheorie.) Ihre stark basischen Eigenschaften werden durch ihren hohen Gehalt an Hexonbasen (s. o.) bedingt.

Neben den einfachen Eiweisskörpern kommen im Organismus, und wahrscheinlich überwiegend, Paarlinge des Eiweisses vor, d. h. Körper, welche aus Eiweiss und einer prosthetischen Gruppe bestehen. Die für das Zellenleben mit die wichtigsten als Hauptbestandtheile des Zellkernes sind die Nukleoproteïde, Paarlinge des Eiweisses mit einer Nukleïnsäure. Da bei den meisten Zersetzungsmethoden das Eiweiss nicht mit einmal abgeschieden wird, entstehen Zwischenprodukte, welche heute im allgemeinen als Nukleïne bezeichnet werden, während man damit ursprünglich alle P-haltige Eiweisssubstanz, späterhin Nukleoproteïde, Nukleïne und Nukleïnsäuren unterschiedslos benannte. Die charakteristische Eigenschaft der Nukleoproteïde, welche zu ihrer Entdeckung geführt und noch heute vielfach zur Untersuchung benützt wird, ist, dass sie bei Körpertemperatur mit Pepsinsalzsäure zusammengebracht nach einiger Zeit einen Niederschlag fallen lassen, der das gesammte P des Nukleoproteïds enthält. Die Isolirung der Nukleïne wird denn auch gewöhnlich so vorgenommen, dass das nukleïnhaltige Organ, nach der Fettextraktion durch Alkohol und Aether, bei 37—40° der Pepsinverdauung unterworfen, dann mit sehr verdünnter Natronlauge extrahirt und die Lösung in verdünnte Säure filtrirt wird. Doch kann Nukleïn auch nach Behandlung mit Säure und Alkalien, Kochen mit Wasser etc. aus den Nukleoproteïden gewonnen werden. Im natürlichen Zustand scheinen nur die Nukleoproteïde und keines ihrer Spaltungsprodukte vorzukommen. Zumal waren die älteren Angaben über das Auftreten freier Nukleïnsäure in den Zellen (bei der Kerntheilung) sicherlich falsch. Als gepaartes Eiweiss sind vielfach Histone und Protamine beobachtet worden. Die Nukleoproteïde haben alle sauren Charakter, sind in Wasser- und Salzlösungen löslich, löslicher noch in Alkalien. Durch Säuren werden sie gefällt, im Ueberschuss, besonders durch Mineralsäuren, oft unter Zersetzung gelöst. Sie werden wie einfaches Eiweiss koagulirt und denaturirt. — Die Nukleïnsäure, deren Abspaltung vom Nukleïn durch verdünnte Alkalien geschieht, wird vom Eiweiss durch Ansäuern in Essigsäure getrennt, wobei das Eiweiss gefällt wird, während die Nukleïnsäure in Lösung bleibt; nur die Pankreasnukleïnsäure wird durch Essigsäure gefällt. Alle werden durch Mineralsäuren gefällt und im Ueberschuss gelöst, durch Alkohol werden sie gefällt, am besten durch salzsäurehaltigen 50%igen. Sie sind wenig löslich im kalten Wasser, leicht im heissen, sehr leicht löslich in Alkalien, auch in Kaliumacetat. Gegen Alkalieinwirkung, zumal bei Zusatz von Natriumacetat, z. B. beim Kochen in 2%iger KOH, sind sie sehr resistent, während sie beim Kochen in Säure oder auch schon im Wasser leicht in ihre Spaltungsprodukte (s. unten) zerlegt werden. Die Nukleïnsäure ist zweibasisch. Sie bildet unlösliche Salze mit Schwermetallen, ebenso mit alkalischen Erden. Die Kupfersulfatfällungen z. B. der Lachsspermanukleïnsäure sind in Ammoniak löslich. Sie werden gefällt durch Gerbsäure, Pikrinsäure und Phosphorwolframsäure und geben von den Eiweissreaktionen nur die von Adamkiewicz und die Xantoproteïnreaktion. Sehr charakteristisch für die Nukleïnsäure sind ihre Spaltungsprodukte, zumal die Nukleïnbasen, auch Alloxurbasen genannt, die jedoch nicht alle zugleich vorhanden zu sein brauchen, nämlich Xanthin, Guanin, Adenin, Hypo-

xanthin, zur Purinreihe gehörige Alkaloide, die übrigens zum grössten Theil schon früher als Abbauprodukte frei im thierischen und pflanzlichen Organismus gefunden waren. Ferner wurde gefunden als weitere Base Cytosin, weiter Thymin und eine kohlenhydratreiche lävulinbildende Gruppe. — Nukleoproteïde wurden bisher ausschliesslich aus kernreichen Organen hergestellt, wie aus Leukocyten, Pankreas, Thymus, Milz, Leber, Sperma von Säugethieren, Seeigeln, Fischen. Ihre Beziehung zu den Kernen wurde dadurch sehr wahrscheinlich gemacht, dass durch quantitative Bestimmung des Nukleïngehaltes verschiedener Organe gezeigt werden konnte, dass dieser in kernreichen Organen speciell embryonaler Gewebe am grössten ist (Kossel [9]). Die Leukocyten enthalten 77% ihrer trockenen Substanz Nukleohiston (Lilienfeld [10]). Die aus Kernsubstanz bestehenden Köpfe vom Fischsperma enthalten 96% nukleïnsauren Protamins (Miescher [11]). Ueber die direkten Beziehungen zwischen Nukleïnbasen und Zellkern konnte nachgewiesen werden (Tichomiroff [12]), dass in Insekteneiern der Gehalt an Nukleïnbasen proportional mit dem der Kerne wächst. Die sogenannten künstlichen Nukleïne, resp. Paranukleïne entstehen bei Einwirkung von Phosphor-, resp. Metaphosphorsäure auf Eiweissstoffe, stehen also den Nukleoproteïden sehr fern.

Auf das den rothen Blutfarbstoff bildende Proteïd Hämoglobin kann hier nur hingewiesen werden. In engerer Beziehung zu den Zellen stehen noch die Glykoproteïde, Eiweisskörper, bei denen sich unter ihren Spaltungsprodukten ein Kohlenhydrat oder das Derivat eines solchen befindet. Das Kohlenhydrat kann nur durch stärkere Einwirkung durch Kochen in Mineralsäuren oder intensivere Alkaliwirkung abgespalten werden, wobei dann aber auch das Eiweiss zerstört wird. Sie gehören fast alle zur Gruppe der Schleimstoffe und bilden schon in grosser Verdünnung mehr oder weniger schleimige fadenziehende Lösungen. Sie werden beim Erhitzen nicht denaturirt, dagegen werden sie denaturirt und verlieren ihren Schleimcharakter durch Einwirkung von Säuren, Alkalien etc. und durch längeres Liegen in ungelöstem Zustand. Die Glykoproteïde sind ausgesprochene Säuren, die Lackmuspapier röthen und durch Säuren gefällt werden, auch durch Essigsäure, von der sie im Ueberschuss nur schwer aufgelöst werden. Sie kommen in allen schleimigen thierischen Organen vor, auch in den Sehnen, Kornea etc. und ist ihre Eintheilung in Mucine und Mukoide eine ziemlich schwankende. Das Chondromukoid des Knorpels ist durch seinen Gehalt an Chondroitinschwefelsäure ausgezeichnet.

Für die Zellchemie nicht mehr in Betracht kommen die als Stützsubstanz des thierischen Körpers dienenden Albuminoide. Ueber die leimgebende Substanz: Kollagen und Elastin siehe die entsprechenden Artikel. (Ueber Keratin den Artikel Haut.) Ueber die für die Zellchemie wichtigen Fermente und ihren Nachweis vergl. Enzyme, über ihre Bedeutung im Zellenleben die von Hofmeister gegebene Skizze. Naturw. Rundsch. 1901.

Mikrochemie. Der mikrochemische Nachweis der in der Zelle enthaltenen Eiweissstoffe, ihre Lokalisation, deren Kenntniss berufen wäre, uns über viele der wichtigsten physiologischen Probleme Aufschluss zu geben, ist nun mit ganz besonderer Schwierigkeit verknüpft. Die Reaktionen können einmal nur an todten Zellen angewandt werden, bei deren Absterben, auch wenn die Koagulation des Eiweisses noch so plötzlich geschieht, dennoch erhebliche Zersetzungen und Umlagerungen vor sich gehen. Weiter sind in diesen an und für sich sehr kleinen Objekten die Stoffe nur in grosser Verdünnung enthalten. Schliesslich fehlen ja für die meisten Eiweissstoffe auch makroskopisch charakteristische Reaktionen. So war man gezwungen, alle irgend wie in Betracht kommenden unterscheidenden Merkmale heranzuziehen, die verschiedenen Grade der Fällbarkeit, der Löslichkeit und schliesslich der Säuren- und Basenkapacität, welche in der Reaktionsfähigkeit auf Anilinfarben ihre Anwendung gefunden hat.

Auch der Umstand, dass einige Eiweissstoffe sich durch Gehalt an Phosphor und Eisen auszeichnen, wurde zum Nachweis dieser Stoffe verwendet. Um in dem Kern den für die Nukleïnsäure charakteristischen Phosphor nachzuweisen, wurden die zu untersuchenden Objekte zunächst in eine Lösung von molybdänsaurem Ammon gebracht, das in salpetersaurer Lösung mit organischer Phosphorverbindung eine Fällung giebt, wenn aus demselben Phosphorsäure abgespalten wird. Diese Fällung, welche sofort am Ort ihrer Entstehung niedergeschlagen wird, kann dann durch Reduktion mit Pyrogallol sichtbar gemacht werden

(Lilienfeld und Monti[13]) oder auch durch Zinkchlorid, das eine glycerinhaltbare blaue Farbe gibt (Pollacci[14]). Aus dem positiven Ausfall der Reaktion schlossen die Autoren auf die Anwesenheit von Phosphor. Dass diese Reaktion jedoch auch an sicher phosphorfreiem Eiweiss eintritt und mit Farbstoffeinlagerung auf gleiche Stufe zu stellen ist, wurde später gezeigt (Raciborski[15]), Heine[16]), so dass wir zum Phosphornachweis im Kern keine brauchbaren Reaktionen besitzen.

Zum Nachweis des organisch gebundenen »maskirten« Eisens im Kern werden diese organischen Verbindungen durch Alkohol, dem auf 100 Vol. 4 Vol. concentrirter Schwefelsäure oder 3 Vol. Salpetersäure zugesetzt sind, zerstört, das Eisen wird sofort an Ort und Stelle gefällt und dann durch Ferrocyankali nachgewiesen; es soll vorwiegend im Chromatin, wenig in den Nukleolen vorhanden sein (Macallum[17]). Dieser Nachweis ist jedoch mit grosser Vorsicht aufzunehmen (Zimmermann[18]), da Chromatin wie alle Metalle auch Eisen stark speichert (Gilson[19]). Wenn sich die Kerne mancher Pflanzen mit Hämateïn, resp. Hämatoxylin unter dem Einfluss der Luft allein leidlich färben, so soll dies durch die in der Pflanze vorhandene Thonerde bedingt sein (P. Mayer[20]).

a) Fällungsanalytische Methoden. Es mag hier von vornherein bemerkt werden, dass die für die makrochemischen Unterscheidungen so wichtigen Fällungsmethoden gerade für mikrochemische Zwecke trotz mannigfacher Versuche so gut wie kein brauchbares Resultat geliefert haben. Es wird dies zum grössten Theil dadurch bedingt, dass, wie wir schon sahen, die Reaktion der Lösung ebenso wie die Anwesenheit von Salzen von wesentlichem Einfluss auf den Eintritt der Reaktion ist und wir z. B. wissen, dass die alkalische Reaktion, wie sie der Zellsaft häufig aufweist, die Fixirungskraft im allgemeinen herabdrückt. Etwas bessere Resultate liefern die von dem fixirungsanalytischen natürlich nicht scharf zu trennenden Methoden, das einmal gefällte Eiweiss wieder in Lösung zu bringen (s. unten). Der erste, der systematisch den Einfluss von Säuren auf die Zelle prüfte, war Schwarz[21]), und sollen, um die Art seiner keineswegs einwandfreien Untersuchungen zu schildern, die Resultate hierher gestellt werden, welche er bei der Einwirkung von Salz- und Essigsäure auf den Kern erhielt:

Sehr verdünnte Säuren 0,2% (ähnlich bei 0,3%) Essigsäure oder 0,1% Salzsäure fixiren die Kerne, die Kernsubstanzen sind unlöslich und nicht quellbar, nur in der verdünnten Salzsäure können Fibrillen und Grundsubstanz ihr Volumen etwas vergrössern. In 50%iger Essigsäure bleibt nur das Chromatin unverändert, die übrigen Substanzen quellen mehr oder weniger stark.

Durch Eisessig werden die Kerne in eine durchsichtige Gallerte verwandelt, auch das Chromatin wird im Kern vertheilt.

In 1%iger Salzsäure quellen Fibrillen und Grundsubstanz verschieden stark oder auch gar nicht. Das Chromatin ist anfangs immer unlöslich und unquellbar. Nukleolen und Membran quellen etwas, können sich schliesslich lösen.

In 20%iger Salzsäure sind die Kerne anfangs fixirt, werden unter Verlust der deutlichen Struktur feinkörnig, Nukleolen und Membran bleiben erhalten.

Koncentrirte Salzsäure wirkt ähnlich wie Eisessig, manchmal werden die Kerne vollständig gelöst.

In freien Säuren ist das Chromatin der relativ widerstandsfähigste Körper, der jedoch durch hohe Koncentrationen ebenfalls zersetzt wird. Membran und Kernkörperchen quellen bei geringerer Koncentration leicht auf, können sich eventuell lösen.

Das Schema, dass der andere Untersucher (Fischer[4]) für die Fällung der einzelnen Eiweissstoffe mit den gebräuchlichen Fixirungsmitteln aufstellte, fand sinngemäss seinen Platz im makrochemischen Theil (s. oben).

Fischer machte auch auf einen anderen Unterschied aufmerksam, der vielleicht noch einmal für fällungsanalytische Untersuchungen in Betracht kommen könnte, indem er nach der verschiedenen Form der Niederschläge Granula- und Gerinnselbildner unterscheidet und zu ersteren die Albumosen, Pepton und Nukleïnsäure, zu letzteren Albumin, Globulin, Kaseïn, Nukleïn stellt.

b) Lösungsanalytische Methoden. Die makrochemisch festgestellte verschiedene Löslichkeit der Eiweissstoffe ist für das mikroskopische Objekt eigentlich nur zur Unterscheidung von Nukleïn und Nichtnukleïn in Anwendung gekommen. (Ueber den Nachweis des Histons s. oben.) Sind auch diese Methoden schon nicht rein chemische, sondern mehr morphologische

Reaktionen zwischen Kernsubstanz und Plasma, resp. Nukleolarsubstanz, ist die unterscheidende Charakteristik des Plastins gegenüber dem Nuklein noch weniger mit makrochemisch dargestellten Stoffen zu identificiren. So gut wie rein morphologisch sind die übrigen für die feine Zellenuntersuchung in Anwendung gekommenen Lösungsmethoden, die jedoch wegen ihrer voraussichtlich zum grössten Theil chemischen Grundlage an dieser Stelle kurz erwähnt werden sollen. Bei allen diesen Versuchen erhält man im allgemeinen klare Bilder nach der Fällung mit Alkohol ohne Koagulation, doch muss die Einwirkung, um die durch die schliessliche Koagulation eintretende starke Veränderung der Löslichkeit zu vermeiden, möglichst kurz sein, höchstens 24 Stunden, und ist auch stets das frische Objekt zum Vergleich mit heranzuziehen.

Als wesentlichste Darstellungsweise des Nukleïns und der Nukleïnsäure haben wir ihre Unverdaulichkeit im künstlichen Magensaft kennen gelernt. In gleicher Weise geschieht ihre Unterscheidung gegen die übrigen Eiweissstoffe in der Mikrochemie. (Ueber die allgemeine Reaktion der Eiweissstoffe vergl. Art. Eiweissstoffe der Pflanzenzelle, pag. 187.) ZACHARIAS 1898[29]) gebraucht hier meist ein unmittelbar vor den Versuchen durch Vermischen von 1 Vol. Glycerinextrakt aus Schweinsmagen mit 3 Vol. Salzsäure von der Koncentration 0,28% HCl hergestelltes Präparat; die Wirksamkeit der Flüssigkeit wurde durch eine in Alkohol aufbewahrt gewesene Fibrinflocke geprüft. Von der nach längerer Verdauung mit diesem Extrakt noch übrig gebliebenen Substanz kann eine Nukleïnnatur (resp. Plastin, s. unten) vermuthet werden. Die von HEINE 1896[23]) angewandte (von ZACHARIAS angeführte[22]) Methode der Verwendung künstlichen Magensaftes durch Verreiben von frisch abpräparirter Schweinsmagenhaut mit 0,8%iger HCl erscheint hingegen auch das Nukleïn zu lösen und nur das Plastin unverändert zu erhalten. Die Angaben (MIESCHER 1896[24]), dass die Kernsubstanz bei Behandlung der Hodensubstanz mit einer Lösung von krystallisirter Galle oder taurocholsaurem Natrium und Chlorcalcium erhalten, das Protoplasma völlig gelöst wird, konnte von anderer Seite (ZACHARIAS[22]) mit taurocholsaurem Natrium (GRÜBLER) und glykocholsaurem Natrium hergestellt aus Glykocholsäure in kohlensaurem Natrium nicht bestätigt werden. Nach der Verdauung erscheinen die nukleïnhaltigen Theile meist scharf differenzirt; von besonders charakteristischem glänzenden Aussehen auch beim Quellen in 0,3%iger Essigsäure — beim Sperma wohl nicht, wie ZACHARIAS ursprünglich vermuthete, auf einer Herauslösung des Protamins beruhend — während die nicht nukleïnhaltigen Substanzen ein verschwommenes Aussehen annehmen und die Nukleolen völlig verquellen

Die »Nukleïne« sind in frischem Zustande löslich, eventuell nach Verdauung im künstlichen Magensaft, in 10%iger NaCl-Lösung, koncentrirter $NaCO_2$, verdünnter Kalilauge (ZACHARIAS[25]), durch Alkoholbehandlung scheinen gewisse Eigenthümlichkeiten der Nukleïnsubstanz verloren zu gehen, denn mit solchem Material konnten keine sicheren Lösungserscheinungen mit 10%iger NaCl-Lösung, 1%iger Na_2 HPO_4, 1%iger $NaCO_2$, 10%iger NH_4 erzielt werden (HEINE[23]). So lösen sich auch z. B. die Chromatinkugeln in Phajuswurzeln in 0,5—1%iger Sodalösung, während die Lachsspermanukleïnsäure nach Alkoholbehandlung in Sodalösung ihre Löslichkeit verliert (ZACHARAS 1898[22]). Dies scheint jedenfalls von anderen Gründen abgesehen das Vorkommen freier Nukleïnsäure, vermuthet von LILIENFELD, auszuschliessen (HEINE[23]) (s. oben), wie sich überhaupt aus all diesen Untersuchungsmethoden ergiebt, dass ein chemischer Unterschied in der Nukleïnsubstanz des ruhenden und sich theilenden Kernes nicht vorhanden ist. Ein besonders charakteristisches Lösungsmittel des Nukleïns ist eine Lösung von 10 Grm. Glaubersalz pro Analyse MERK, 1 Grm. Essigsäure, 100 Grm.

Wasser (der noch etwas Methylgrün zugefügt werden kann) von ZACHARIAS[22]) nach MIESCHER 1896[24]) angegeben, da im Gegensatz hierzu alle nichtnukleïne Eiweisssubstanz besonders scharf hervortritt (z. B. Schwanz, Kopfspitzen und Mittelstück des Lachs- oder Tritonspermas gegenüber dem Kopfstück, oder Nukleolen, resp. Pflanzenpyrenoide gegenüber dem Kerngerüst), was durch einen Zusatz von Säurefuchsin (statt Methylgrün) noch verdeutlicht wird (s. unten). Welche Vorsicht jedoch bei solchen Versuchen und ihrer Deutung geboten, ergiebt sich daraus, dass Köpfe von Stier- und ebenso Menschensperma gegenüber der Glaubersalzlösung sich durchaus passiv verhalten, wie überhaupt, wie hier gleich bemerkt sein mag, auch die sonst für Nukleïn charakteristischen Färbungsreaktionen nicht eintreten, sie aber dennoch, wie die makrochemischen Untersuchungen zeigen, erhebliche Mengen von Nukleïn enthalten (ZACHARIAS 1901[26]), vielleicht weil die Dichtigkeit der Substanz das Eindringen der Reagentien verhindert. Ueber die Lösung der mit FLEMMING'scher Flüssigkeit fixirten Objekte durch Chromsäure, wie die Lösung in überhitzter Flüssigkeit (WISSELINGH 1898, 1899, 1900[27]) vergl. Conjugata. Hingewiesen werden mag hier auch auf die unförmliche Quellung, welche Chromosomen frischer Gewebe bei Koagulation durch heisses Wasser erleiden (WASIELEWSKI[28]).

Die eigentliche unterscheidende Reaktion zwischen Nukleïn und Plastin, das zuerst von J. REINKE 1881[29]) aus den Plasmodien von Aethalium septicum dargestellt wurde und in verdünnten Säuren und Alkalien unlöslich ist, besteht in der Löslichkeit des ersteren und Unlöslichkeit des letzteren in einer Salzsäure, welche auf 4 Vol. reiner koncentrirter HCl 3 Vol. Wasser enthält, ähnlich wirkt NaOH 1/10 normal 0,4% (HEINE), auch soll es nach der Verdauung im künstlichen Magensaft nicht wie Nukleïn in 10%iger NaCl-Lösung verquellen (ZACHARIAS 1887). Es bildet in der Zelle das Grundgerüst des ruhenden Kernes, weiter eine dünne, die Chromosomen umgebende Haut und tritt zum kleinen Theil auch in den Plasmastrahlungen und Verbindungsfasern auf (HEINE), wenn dieselben auch zum grössten Theil plasmatischer Natur sind, da sie in Verdauungsflüssigkeit oder schon in 0,28 HCl gelöst werden (ZACHARIAS 1902[30]). Jedenfalls sind sie nicht nukleïnhaltig, da sie in der Glaubersalzlösung besonders scharf hervortreten.

Es lag nahe, die für die Charakterisirung der Eiweissstoffe so wichtigen Löslichkeitsverhältnisse in Neutralsalzen direkt auf die Morphologie der Zellen in Anwendung zu bringen, ein Untersuchungsverfahren, das in ausführlicher Weise von SCHWARZ 1892[21]) behandelt wurde. Wenn dennoch seine Resultate ziemlich allgemeinen Widerspruch erregt haben (ausführlich ZIMMERMANN 1896[31]), so ist dies darin begründet, dass er einerseits durch die direkte Beeinflussung des lebenden Plasmas im wesentlichen Absterbeerscheinungen erhielt, andererseits bei allen seinen Resultaten sich zu wenig Uebereinstimmung zwischen den einzelnen Objekten ergeben haben. Dass übrigens in kritischer Weise angewandt (besonders mit beständigem Kontrolliren unter dem Mikroskop) diese Methoden des langsamen Absterbenlassens wohl tieferen Einblick gestatten können, zeigen z. B. die Versuche an Spirogyra mit Kaliumnitrat, Chloralhydrat und Phenollösung, wobei u. a. die Spindelfasern der Einwirkung des Chloralhydrats längeren Widerstand leisten als das übrige Plasma (WISSELINGH 1902[32]). Da die SCHWARZ'schen Bezeichnungen vielfach Eingang in die Litteratur gefunden haben, sollen die wesentlichsten, und zwar mit den einwandfreiesten Reaktionen — wohl zumeist Verdauungen mit Trypsin und Pepsin an frisch fixirtem Alkoholmaterial — gewonnenen Resultate hier angeführt werden. Die Chloroplasten bestehen aus in Pepsin und Trypsin unverdaulichen Chloroplastinfibrillen und verdaulichem dazwischen eingelagerten Metaxin, das schon in Wasser löslich ist. Die zur Isolirung und zur Identificirung der Chloroplasten sonst noch vorgeschlagene (FISCHER 1897[33]) Flusssäure quillt in 40%iger nichts, in 55%iger Lösung alles, ist daher hierzu ungeeignet (ZACHARIAS 1900[34]). Im Zellkern sind nach SCHWARZ 5 Substanzen zu unterscheiden, das Amphipyrenin, das die Kernmembran bildet, das Pyrenin, die Substanz der Nukleolen, das Chromatin, die stark tinktionsfähige Substanz des Kerngerüstes, das Linin, das ein fibrilläres Gerüst im Kern bildet, und das Paralinin, das die Maschen dieses Gerüstwerkes ausfüllen soll. Die wichtigsten Unterscheidungen zwischen dem Chromatin und Pyrenin wäre die sehr leichte Verdaulichkeit des ersteren in Trypsin, im Gegensatz zu der viel schwereren Verdaulichkeit des letzteren. Ziemlich koncentrirtes Kupfersulfat, ebenso wie eine Lösung von Ferrocyankalium und Essigsäure (1 Vol.

10%iger Blutlaugensalzlösung, 2 Vol. Wasser, 1/2 Vol. Eisessig) sollen das Chromatin allmählich in Lösung bringen, während die Nukleolen ungelöst bleiben. (Beides wurde nicht bestätigt von Fischer 1896[33], der alle beide Theile ungelöst fand.) Diese beiden letzteren Reagentien sollen auch zur Unterscheidung zwischen dem darin löslichen Chromatin und dem unlöslichen Linin gelten. Im Plasma soll nur ein hauptsächlicher Eiweissstoff Cytoplastin enthalten sein, das im wesentlichen mit den Reaktionen des Plastins (s. o.) übereinzustimmen scheint. Es wurde auch allerdings, mit negativem Resultat, versucht, die so unterschiedenen Substanztheile mit makrochemisch dargestellten zu identificiren. Da sich das Cytoplastin, Chloroplastin, Chromatin, Linin, Pyrenin und Amphypyrenin bei künstlicher Magensaftverdauung nicht lösen, werden sie alle als Modifikationen des Nukleïns angesehen, ohne mit einem bisher dargestellten übereinzustimmen. Ebenso lassen sich das verdauliche Metaxin und Paralinin nicht mit irgend einem Eiweissstoff identificiren. Ueber die mit Lysol darstellbare quellbare Substanz des Kernsaftes »Oedematin« vergl. Art. »Lysol«.

c) Färbungsanalytische Methoden. Die Einführung der Färbung in die mikroskopische Anatomie hatte ursprünglich ausschliesslich den Zweck, die im ungefärbten Zustande nicht oder undeutlich zu unterscheidenden morphologischen Bestandtheile in gefärbtem scharf hervortreten zu lassen. So fiel es zumal auf, dass die Zellkerne viel deutlicher sichtbar werden, da sie alle Farben intensiver wie das übrige Plasma zu speichern schienen. Weiter stellte sich dann heraus, dass dies einerseits nicht für alle Farben der Fall wäre, andererseits nur gewisse Theile des Kernes den Farbstoff so begierig zu speichern vermögen. War auch hierin eigentlich bereits die Hauptfrage nach der Möglichkeit färbungsanalytischer mikrochemischer Reaktionen enthalten, nämlich, ob die besondere Färbbarkeit nur der Ausdruck grösserer Dichtigkeit der Substanz oder sonstiger physikalischer Erscheinungen sei oder wirklich analysirbare chemische Unterschiede dokumentire, so wurde diese Frage damals noch nicht gestellt, auch noch nicht im präcisen Sinne von Flemming 1880[35], der, als er den intensiver färbbaren Theil des Kernes Chromatin nannte, mehr einen morphologischen als individualisirt chemischen Bestandtheil charakterisirte. Nach Miescher's[11] und Kossel's[9] Arbeiten über den Nukleïngehalt der Kerne konnte allerdings bald das Chromatin als identisch mit den nukleïnhaltigen Substanzen gesetzt werden. Den Schritt, die Farben wirklich als mikrochemische Reagentien zu benutzen, that wohl zuerst Ehrlich, als er den färberischen Differenzen bei den Blutuntersuchungen mit seiner Triacidmischung chemische Unterschiede zugrunde legte. Seit dieser Zeit wurden von der einen Seite immer mehr und mehr specifische Affinitäten morphologischer Elemente zu bestimmten Farben festgestellt, und damit stillschweigend oder ausdrücklich die Möglichkeit anerkannt, chemisch Gleichartiges gleich und unterschieden von chemisch Ungleichartigem zu färben. Von der anderen Seite wurde ebenso energisch bestritten, dass chemische Affinität überhaupt beim Färbevorgang im Spiel wäre, vielmehr behauptet, alle färberischen Unterschiede müssten physikalischen Differenzen zugeschrieben werden. Auf diese allgemeinen Färbungstheorien ist an anderen Stellen des Buches, pag. 335 ff., eingegangen worden. Hier wird es sich im wesentlichen darum handeln, unter Berücksichtigung der gegentheiligen Einwände, die ausschliesslich zu praktischen mikrochemischen Unterscheidungen angewandten Färbungsmethoden, zumal sie zu makrochemisch charakterisirten Stoffen in Verbindung gebracht worden sind, zur Darstellung zu bringen, während diejenigen Methoden, bei denen es sich hauptsächlich nur um eine Verdeutlichung der Struktur handelt, ganz unberücksichtigt bleiben. Diese mikrochemischen Reaktionen werden, entsprechend den bisherigen Resultaten, ähnlich wie bei den lösungsanalytischen Methoden, im wesentlichen auf die Unterscheidung des Nukleïns und Nichtnukleïns, resp. Chromatins und Nichtchromatins hinauslaufen.

Vorbehandlung. Lebende plasmatische Bestandtheile zu färben gelingt bekanntlich nicht, sondern nur die Granula, die als todte Reservestoffe aufzufassen sind. (Vgl. Intravitale Färbung, pag. 349 ff.) Mikrochemische Schlüsse

sind bisher aus diesen Färbungen noch nicht gezogen worden, doch mag in diesem Zusammenhang auf die Prüfung der Reaktion des Zellsaftes durch Methylorange hingewiesen werden (vergl. pag. 623). Erst beim Absterben der Zelle nimmt das Plasma und der Zellkern die Farben auf, jedoch verändern sich beim langsamen Absterben einerseits die chemischen Qualitäten erheblich, andererseits wird auch das Bild in seiner Strukturirung sehr verwischt, so dass z. B. die Kerne meist völlig diffus gefärbt werden. Ist so zur mikrochemischen Reaktionsfärbung nicht schnell getödtetes (fixirtes) Plasma ungeeignet, haben die Arbeiten HEIDENHAIN's[3]), der die Fällung von Eiweiss durch Farbsäuren untersuchte, Aussicht auf eine gleichzeitige Fixirung und Färbung und damit möglicherweise auf mikrochemische Unterscheidungen eröffnet. Aus diesem Grunde wird durch die Vorbehandlung eine schnelle Koagulation herbeizuführen sein. Sie wird aber auch deshalb erforderlich sein, weil im allgemeinen der hohe Wassergehalt der plasmatischen Theile der Farbe zu wenig angreifbare feste Substanz bietet und nur eine sehr diffuse Färbung zulässt. Andererseits ermöglicht erst ein bestimmter Wassergehalt den Eintritt der Farbstoffe und es wäre möglich, dass durch zu starke Wasserentziehung bei der Fixirung (Ueberfixirung) eine Färbung ausgeschlossen ist, doch wird wohl das hier in Betracht kommende Objekt immer schon durch das Wasser der Farblösung wieder gequollen werden. Bei einem von Natur zu dicht strukturirten Objekt hätte entsprechend die Vorbehandlung in Quellung zu bestehen. (Ueber Stiersperma vergl. oben.) So nehmen die Tuberkelbacillen Methylenblau erst nach Behandlung mit Kalilauge auf (vielleicht auch nur auf einer Verstärkung der Farben durch das Alkali beruhend) (FISCHER 1898[4]). Nur in den seltensten Fällen wird man die Koagulation des Objekts durch einfaches Auftrocknen vornehmen, weil dies ja zumeist mit einem langsamen Absterben verbunden ist. Ihm vorzuziehen wäre noch die Koagulation durch Hitze. Für die Fällung auf nassem Wege, bei der die chemischen Eigenschaften des genuinen Eiweisses nicht verändert werden, steht nur das Aussalzen und Fällung durch Alkohol zur Verfügung; da ersteres durch das dabei eintretende langsame Absterben immer ausgeschlossen bleibt, bleibt nur die Fällung mit Alkohol übrig und sie ist auch in der That diejenige, welche bei mikrochemischen färbungsanalytischen Reaktionen die bei weitem empfehlenswertheste, vielleicht allein erlaubte Vorbehandlung ist. Dazu kommt, dass der Alkohol an und für sich die Färbekraft günstig zu beeinflussen scheint. Inwieweit die durch längeres Stehen unter Alkohol eintretende endgiltige Koagulation der Eiweissstoffe auf das färberische Verhalten wirkt, ist noch nicht untersucht. Weiter darf man nicht vergessen, dass ein Theil der Eiweissfällung durch Alkohol anfangs im Wasser, etwa der Farblösung, wieder löslich ist, falls die Eiweissstoffe nicht durch die Farbsalze selbst rasch in unlösliche Verbindungen überführt werden. Deshalb musste z. B. FISCHER[4]) Peptone mit Platinmetall fällen, was ihn dann bei der Färbung zu eigenartigen Schlussfolgerungen führte. Wird auch Formaldehyd (ähnlich Phenol und Lysol) gleichfalls als indifferent fällendes Mittel genannt, macht doch die Angabe FISCHER's[4]), dass damit fixirtes Plasma der Wurzelzellen von Vicia Faba sich mit Methylgrün, dem specifischen Chromatinstoff, färbe, dies zweifelhaft. Alle übrigen fällenden Reagentien (Fixirung) verändern die natürlichen chemischen Eigenschaften, indem sie Acidalbumine, resp. Alkalialbuminate bilden und sind für mikrochemische Zwecke unbrauchbar (sekundäres Färbungsvermögen). So auch für einwandsfreie Versuche natürlich Essigsäure und Sublimat, obgleich sie eine relativ natürliche Färbbarkeit des Objekts hervorrufen, resp. dieselbe steigern sollen, während dieselbe von anderen Stoffen, zumal von Osmiumsäure, erheblich herabgedrückt wird. Als Beispiele besonderer Umstimmung mögen die mit Platinsalzen fixirten Objekte dienen (FISCHER 1898[4]), die sich fast alle

mit Methylgrün durch Bildung von Methylgrünmetallsalzen intensiv färben (PAPPENHEIM [36]). Ebenso sind für mikrochemische Zwecke im allgemeinen auch alle expressen chemischen Beizen, die bei der strukturellen Darstellung eine so grosse Rolle spielen, z. B. bei Hämatoxylinfärbung, zu verwerfen oder nur unter Berücksichtigung aller Nebenumstände mit äusserster Vorsicht zu gebrauchen; sie werden auch im allgemeinen zu entbehren sein, da ihr Werth ja in der Erzielung färberischer Echtheit, die hier entbehrlich, liegt. Dennoch ist es wohl denkbar, durch systematische Verstärkung der ohne Anwendung von Beizen gefundenen natürlichen schwachen chemischen Affinitäten, einwandsfreie instruktivere Bilder zu erzielen und man könnte als Ideal hinstellen, für jeden chemisch individualisirten Körper der Zelle eine Beize und einen dazu gehörigen Farbstoff aufzufinden.

χ) Färbungen und Färbungsdifferenzen, welche für mikrochemische Zwecke unbrauchbar. Würden nur chemische Vorgänge Färbungen und Färbungsdifferenzen bestimmen, könnten aus solchen Unterschieden bei der Färbung geeignet vorbehandelten Materials direkt mikrochemische Schlüsse gezogen werden. Dies zu entscheiden, schien die Beobachtung am künstlichen Objekt an makrochemischen individualisirten Eiweissstoffen einwandsfrei zu sein. Im wesentlichen überhaupt die Reaktionsfähigkeit, resp. Fällbarkeit des Eiweisses mit Anilinfarben festzustellen war die Absicht HEIDENHAIN'S [3]) und dieses Buch, pag. 346, als er Eiweiss in Lösung mit Anilinfarben vorerst nur die der Sulfosäuregruppe zusammenbrachte. Nach ihm treten alle Eiweisskörper sowohl mit sauren als basischen Farbstoffen in Reaktion, entsprechend ihrer sauerbasischen Natur, und verhalten sich nur relativ indifferent gegenüber den Farbstoffen, die aus einer starken Säure und Base bestehen, wie Methylgrün und Toluidinblau. Wird auch vermuthet, dass dies wohl von Seite der stärker sauren Nukleïne und Nukleoproteïde der Fall wäre (s. u.), konnte dies in praxi nur für die Nukleïnsäure nachgewiesen werden. Ist dies auch bisher das einzige für mikrochemisch-analytische Zwecke brauchbare Resultat, scheinen nur auf diese Weise entgegen den Einwendungen FISCHER'S [4]), der schon früher ebenso wie BOGOMOLOW [37]) entsprechende Versuche angestellt und darin nur Aussalzungen und ähnliche physikalische Erscheinungen sehen wollte, die der festen Materie anhaftenden physikalischen Eigenschaften gerade zu vermeiden und einwandsfreie chemische Unterschiede festzustellen zu sein.

Mehr den Vorgängen am festen mikroskopischen Präparat entsprechen allerdings die Versuche, Eiweissstoffe und Nukleïne, resp. Nukleïnsäuren in heterogene (saure und basische Farben) Farbgemische zu schütten (MALFATTI 1891 [38]), LILIENFELD 1893 [39]), ZACHARIAS 1893 [40]), FISCHER 1898 [4]). Die Nukleïnsäure, resp. Nukleïne färbten sich, wie vermuthet, mit dem basischen Farbstoff, das Eiweiss mit dem sauren Farbstoff. Dennoch konnte FISCHER [4]) darauf hinweisen, dass auch hierbei physikalische Vorgänge mitsprechen könnten, andererseits die unregelmässigen Klumpen und Schollen des Präparats nicht zur Entscheidung geeignet wären. Er wandte dafür aus Lösungen mittels der gewöhnlichen eiweissfällenden Stoffe gefällte Granula und Gerinnsel an, die bei bekannter chemischer Konstitution den physikalischen Eigenschaften verschiedener Grösse und Dichtigkeit der Granula des mikroskopischen Präparats entsprechen. Mit auf diesen Versuchen fussen die Untersuchungen, die PAPPENHEIM 1901 [36]) systematisch an natürlichen Objekten vornahm. An der Hand beider Autoren zum wesentlichen sollen im Folgenden die aus den physikalischen Unterschieden resultirenden Fehlerquellen der mikrochemischen Reaktionen bei den einzelnen Färbemethoden geprüft werden.

Entsprechend den Versuchen HEIDENHAIN'S [3]) färben sich mit wenigen Ausnahmen alle Granula und alle Gewebe mit allen Farben. Wenn dennoch

bei Färbungen mit einem Farbstoff oder zwei gleichartigen Farbstoffen (zwei sauren oder zwei basischen), homogenes Gemisch, Differenzen auftreten, so sind sie nicht ohne weiteres als mikrochemisch verwerthbare Unterschiede aufzufassen und können meist nur über gewisse mechanische Eigenschaften Auskunft geben. Sie sind durch den Grad der physikalischen Echtheit der Färbung gegenüber Lösungsmitteln bedingt, also der Ausdruck der Dichtigkeit des Objekts, beeinflusst durch das Lösungs-, resp. Entfärbungsmittel, das Diffusionsvermögen der Farbe, ihr dismotisches Aequivalent, Lösungskoefficient etc. PAPPENHEIM geht wohl zu weit, wenn er ein direktes Verhältniss zwischen der Molekulargrösse der Farbstoffe und den Poren des Substrats konstruirt, so zwar, dass die Farbe am besten an den Substraten haften bleibt, deren Molekularvolumen mit der Porenweite am besten übereinstimmt. Da helle (gelbe) Farbe allgemein kleines Molekularvolumen gegenüber den komplicirt gebauten dunklen Farbstoffen besitzt, macht er dann, um die Erscheinungen der Erythrophilie und Cyanophilie zu erklären, die weitere Hypothese, dass das Plasma kleinere Poren gegenüber dem weitporigen Kern besässe, Vorstellungen, die wohl entwicklungsfähig, aber ohne eigentliche zahlenmässige Ausführungen noch ganz hypothetisch sind.

Wenn bei Färbungen mit einer Farbe aus konc. Lösungen alles gleichmässig angefärbt und dann durch ein Lösungsmittel ein Theil des Substrats wieder entfärbt wird, »regressive« Färbungen, so haftet im allgemeinen der Farbstoff zuletzt an den dichtesten, resp. grössten Zellelementen, so dass z. B. »basophile« Kerngerüste mit gewissen dunkleren sauren Farben physikalisch echter gefärbt sind als alles andere. Das kann nach FISCHER[4]) ganz allgemein der Ausdruck dichterer Struktur sein oder wird nach der PAPPENHEIM'schen Vorstellung bedingt durch die grösseren Molekularinterstitien des Kernes. — Bei der ALTMANN'schen Granulafärbung mit Säurefuchsin-Pikrinsäurealkohol wurde dies z. B. von FISCHER anschaulich demonstrirt. Ebenso ist bei dem HEIDENHAIN'schen Eisenhämatoxylinverfahren, besonders zur Centrosomenfärbung, die aufeinanderfolgenden Entfärbungen der einzelnen Zellenelemente (folgende Reihenfolge wurde angegeben: Protoplasma, Linin, Lanthanin, Chromatin, Nukleolen, Centrosom) nur durch physikalische Eigenschaften bedingt, vermag aber für Hervorhebung und Festhaltung solcher geringer Dichtigkeitsdifferenzen hervorragende Dienste zu leisten. Umgekehrt braucht, wenn bei Färbung mit einer Farbe aus schwachen Lösungen gefärbt wird und der Färbeakt unterbrochen wird, »progressive Färbung«, der intensiver gefärbte Theil der Zelle nicht derjenige zu sein, der grössere chemische Affinität zum Farbstoff besitzt, wenn dies auch natürlich der Fall sein kann, da ja das Lösungsmittel zugleich das Entfärbungsmittel darstellt, und man könnte sich z. B. vorstellen (PAPPENHEIM), wie die Farbe mit kleinerem Molekularvolumen, ohne zu haften, leichter durch die weiteren Molekularinterstitien diffundiren könnte, während sie von den engeren festgehalten wird. So kann auch nicht zu mikrochemischen Schlüssen der Umstand veranlassen, dass sich der progressiv zuerst färbende Theil oft bei regressiver Färbung am spätesten entfärbt, da dies auch keineswegs immer geschieht (so färbt sich z. B. der Kern sehr schwer mit Indulin an und erweist sich nachher sogar glycerinecht). Es kann aber auch auf das Nichtvorhandensein chemischer Affinitäten durch leichtes Auswaschen im chemischen Entfärbungsmittel, z. B. angesäuerten Alkohol, nicht geschlossen werden, da ja der Grad der Zersetzlichkeit etwa gebildeter Eiweissfarbsalze nicht bekannt, wie sogar nicht aus leichter Auswaschbarkeit im physikalischen Lösungsmittel, wie z. B. das sicherlich mit dem Chromatin chemisch gebundene Methylgrün ganz besonders leicht mit Glycerin auswaschbar ist. — Ganz entsprechend den regressiven Färbungen mit einer Farbe ist auch den Succedanfärbungen mit zwei und mehr Farben

im allgemeinen ein mikrochemischer Werth nicht zuzumessen. Bei der so häufig gebrauchten FLEMMING'schen Färbung ist es z. B., je nachdem zuerst mit Safranin oder Gentiana regressiv gefärbt wird, möglich, die Nukleolen und Kerntheilungsfiguren roth oder blau zu färben, dann durch Nachfärbung mit dem anderen Farbstoff die übrigen dichteren Bestandtheile entgegengesetzt zu färben, da die Molekularinterstitien der schon gefärbten Bestandtheile verstopft und so der nachfolgenden Farbe der Eintritt verwehrt wird. Giebt auch diese Färbung bekanntlich strukturell besonders feine Nuancen, ist sie zu mikrochemischen Studien durchaus nicht verwerthbar. (TISCHLER[41]) 1900 hat z. B. bei der verschiedenen Struktur der Kerne dies ganz ausser Acht gelassen.) — Bei der simultanen Färbung aus Gemischen zweier saurer und zweier basischer Farbstoffe (homogenen Gemischen) werden oft einzelne Zellstrukturen verschieden gefärbt. Es ist dies so zu erklären (FISCHER), dass »jede Komponente eines Farbgemisches diffundirt mit der ihr eigenthümlichen Diffusionsgeschwindigkeit und proportional ihrer Koncentration, wobei dann entweder der seiner Natur nach oder durch die höhere Koncentration schneller diffundirende Farbstoff die Granula schon gefärbt hat, wenn sie die langsam diffundirende Farbe erst mitfärbt, oder wenn er von erheblich höherer Farbkraft (Deckkraft) die erste Farbe in ihnen überdeckt. So geschieht es z. B. bei der gebräuchlichen Methylgrünfuchsinfärbung.

Aehnlich wäre danach auch das früher durchaus als chemischer Vorgang angesehene AUERBACH'sche[41a]) Phänomen der Erytrophilie und Cyanophilie aufzufassen, dass sich nämlich aus einem rothblauen Gemisch zweier basischer Farbstoffe, wenn die Färbungen im richtigen Moment unterbrochen, progressiv behandelt werden, einerseits die Kerne cyanophil gegenüber dem erytrophilen Plasma, andererseits die männlichen Sexualkerne cyanophil gegenüber den weiblichen erytrophilen verhalten. (Neben AUERBACH[41a]), ROSEN[42]), SCHOTTLÄNDER[43]) für pflanzliche Organismen.) Es wäre dies also nur der Unterschied des dichter strukturirten gegenüber dem substanzärmeren Bestandtheil (FISCHER). Nach der PAPPENHEIM'schen Theorie wären die Kerne cyanophil, färbten sich deshalb in dunklerer Farbe, weil sie weitporiger wären, als die erytrophilen, und die Farbmoleküle höheren Molekularvolumens zurückbehalten könnten, z. B. Indulinfärbung der Kerne aus EHRLICH'S Gemisch für eosinophile Granulation (Aurantia, Eosin, Indulin). In gleicher Weise wäre die erytrophile weitporiger als die xantophile Substanz. So meint er z. B., dass bei Bacillen, die sich aus einer Methylenblaufuchsinmischung roth färben, auf einen relativ engeren Bau geschlossen werden kann. Da es aber nach anderen Erfahrungen sehr wahrscheinlich ist, dass die männlichen Sexualkerne die gleiche Substanz enthalten, wie die weiblichen und sie nur auf einen engeren Raum zusammengedrängt ist, ist nach dieser Theorie nicht einzusehen, wieso sich dann die ersteren gerade cyanophil, die letzteren erytrophil verhalten sollten, eine Ueberlegung, die in entsprechender Weise bei den cyanophilen generativen und erytrophilen vegetativen Pollenschlauchkernen anzustellen ist. Hat man so auch noch nicht über die physikalischen Voraussetzungen Klarheit gewonnen, stimmt man doch darin überein, dass solcher Kombinationsfärbung mit homogenen Gemischen chemische Bedeutung nicht beizulegen ist, sie jedoch für die Erschliessung der allgemein physikalischen Konstitution von Bedeutung sein kann. Es würde danach also z. B. auch möglich sein, durch indifferente Vorbehandlung eine Veränderung der Cyanophilie und Erytrophilie zu erzielen. (Ueber Cyanophilie und Erytrophilie aus heterogenen Gemischen siehe nächsten Abschnitt.) Ueber die Metachromasie der Färbung gewisser Zellen und Zellbestandtheile in anderen Nuancen, über deren chemische oder physikalische Deutung noch keine Klarheit gewonnen wurde, findet sich alles

Wesentliche unter Mastzellen pag. 199 ff. und über die in Betracht kommenden Farben unter Metachromatie.

β) Färbungen und Färbungsdifferenzen, welche für mikrochemische Zwecke brauchbar. An eine einwandsfreie mikrochemische Farbenreaktion ist theoretisch die Forderung zu stellen, dass ein chemisch individualisirter Körper ausschliesslich durch die angewandten Farben gefärbt oder aber auch, dass alle Körper ausser ihm die Farbe annehmen. Oder giebt man von vornherein zu, dass nur die mehr saure oder basische Natur des Körpers, oder besser Basen- und Säurenkapacität, entsprechend der sauerbasischen Natur des Eiweisses, zur Darstellung gebracht werden kann, müsste es Farben geben, welche nur Färbungen innerhalb eines bestimmten Intervalls der Acidität, resp. Basicität hervorriefen, oder es könnte Farben geben, welche metachromatisch durch ihre verschiedenen Nuancen den Grad der Acidität, resp. Basicität angeben. Für die metachromatisch färbenden Anilinfarben ist der Nachweis noch nicht gelungen. (Vergl. hingegen weiter unten über das Methylenazur.) Nicht ausgeschlossen wäre es auch mit Hilfe der »Indikatoren« (Methylorange, Lackmus, Phenolphthaleïn), »der Alkalimetrie« durch bestimmte Farbenänderungen nach der OSTWALD'schen Theorie (1894) direkte Rückschlüsse nicht nur auf den Grad der Basicität, sondern auch auf »die Säurestärke« (Dissociirung und Ionisirung) zu machen. — Wir sind somit für die färbungsanalytischen Methoden auf Farben beschränkt, welche oberhalb oder unterhalb einer bestimmten Acidität oder Basicität des Substrats färben, und durch diese Färbungen somit nur imstande, über die Grenzwerthe etwas Sicheres auszusagen. Aber auch diese Grenzwerthe festzustellen, gestatten nur sehr wenige der bisher untersuchten Farbstoffe. Das oben erwähnte Resultat HEIDENHAIN's[3]), der makrochemisch zwischen gewöhnlichen Eiweissstoffen und Methylgrün keine Umsetzung, jedoch mit Nukleïnsäure solche aus der Lösung ausfallende nukleïnsaure Farbsalze erzielen konnte, haben in der mikroskopischen Technik schon seit längerer Zeit darin ihren Ausdruck gefunden, in dem Methylgrün einen specifischen Farbstoff des Kerngerüsts, des Chromatins, resp. Nukleïns zu sehen und ihn geradezu als dessen Reagenz zu bezeichnen. Letzteres findet darin seine Berechtigung, dass in der That von allen in der Zelle vorkommenden Substanzen das Kernchromatin, dessen Nukleïnnatur durch makrochemische und lösungsanalytische Untersuchungen dargethan, allein sauer genug ist, diesen ganz besonders konstituirten, schwer zersetzlichen Farbstoff zu dissociiren und chemisch färberisch aufzunehmen (ebenso verhält sich das Kaseïn FISCHER 1898[4]). HEIDENHAIN vermuthet, es käme daher, dass die Base des Farbstoffes als ein Triamidotriphenyl-Methan eine starke Base wäre, dass aber, da bereits zwei N-Atome fünfwerthig, die eine freie Amidogruppe an sich nur schwache Basicität verleihe. (Es sei hier darauf hingewiesen, dass das käufliche Methylgrün fast stets durch Methylviolett verunreinigt, das durch mehrmaliges Schütteln mit Methylalkohol zu entfernen ist, FISCHER 1898.[4]) Ist also nach den bisherigen Erfahrungen nur das Kernnukleïn fähig, sich mit Methylgrün zu färben, wissen wir darum noch keineswegs, ob alles Nuklein sich mit Methylgrün färbt, sondern nur von einem Nukleïn oberhalb einer gewissen Basenkapacität, und es ist nicht ohne weiteres zuzugeben, dass es kein Kernnukleïn, von anderen in der Zelle sonst etwa vorkommenden Nukleoproteïden ganz abzusehen, unterhalb dieser Grenze gäbe, oder auch, dass diese Grenze einen wesentlichen chemischen Unterschied bedinge. In der That sind in der jüngsten Zeit zwei so zu deutende Thatsachen bekanntgegeben worden. Die Kerne der Ganglienzellen ebenso, wie die der thierischen Eizelle (MOSSE 1902[44]) und »das Chromatinkorn« der Malariaparasiten und anderer Protisten (PAPPENHEIM 1902[45]) sind mit Methylgrün nicht zu färben, obgleich der Nukleïngehalt zumal der ersteren Ob-

jekte als ziemlich sicher zu erachten ist. Ebenso verschmähen ja auch die stark nukleïnhaltigen Bakterien Methylgrün. — Bei frischen Objekten wird zur Erzielung scharfer Bilder Methylgrün zweckmässig in einer essigsauren Lösung 100 Grm. Wasser—1 Grm. reine konc. Essigsäure angewandt. Es ist dabei nicht ohne weiteres ersichtlich, ob durch diesen Zusatz die Farbkraft entsprechend wie bei allen basischen Farben herabgesetzt werden soll oder ob die Nukleoproteide leichter ausfallen sollen, während die mannigfachen Eiweisskörper nicht so sicher gefällt, oft in einem labilen Zustand zwischen Fällung und Wiederlösung sich befinden und deshalb nicht geeignete Adsorptionskräfte für die Färbung entfalten. — Umgekehrt wird durch Zusatz von 2 Ccm. einer konc. wässerigen Boraxlösung auf 4 Ccm. 0.5⁰/₀iges Methylgrün die Färbkraft des Methylgrüns so gesteigert, dass nunmehr alle Eiweissstoffe gefärbt werden. — Dass mit chemischen Beizen behandeltes Eiweiss, besonders mit Platinsalz, sich mit Methylgrün oft zu färben vermag, wurde schon erwähnt. — Durch Behandeln des Objektes mit 0,5⁰/₀iger HCl wird anfänglich die Färbbarkeit des Nukleïns erheblich gesteigert, während nach längerer Behandlung alles Plasma gefärbt wird. Zur Gegenfärbung gegen das Chromatin aus homogenen Gemischen ist Pyronin-Methylgrün zu empfehlen (Pappenheim 1902[45]). — Während nun das Chromatin auch zugleich aus allen übrigen Farben, basischen und sauren, gefärbt wird (bedingt durch die Anwesenheit des Oxychromatins (?) neben dem Basichromatin [Heidenhain]), wird die reine Nukleïnsäure durch keine sauren Farben gefärbt, besitzt also eine untere Grenze der Säurekapacität, die dem Nukleïn fehlt. Die gleiche Grenze der völligen Unfärbbarkeit in sauren Farben ist auch für eine Reihe in der Zelle vorkommender Körper festgestellt worden. Da dieselben sich aber zugleich in allen basischen Farben ausser dem Methylgrün färben, ist für sie zugleich eine obere Grenze ihrer Basenkapacität festgestellt. Es sind dies die Mastzellenkörner, das Protoplasma der Lymphocyten und Plasmazellen. Dass den ersteren vielleicht noch nebenbei ein besonderes chemisches Verhalten (gegen Roth aus Methylenblau) zukommt, soll weiterhin erwähnt werden.

Ausser den Ehrlich'schen, sog. eosinophilen Granulationen (s. Blut, pag. 87), welche gar nicht (Pappenheim) oder wenigstens nur in koncentrirten Lösungen (Fischer 1898) von basischen Farben gefärbt werden, lassen sich alle Zellbestandtheile, die sich mit sauren Farben färben lassen, auch mehr oder weniger gut mit allen basischen färben, ausser dem Methylgrün, wie Plastin, Astrosphäre, Plasmastrahlungen, Karyolinin = Oxychromatischer Kernsaft. Dass Sphären- und Spindelreste keine Affinität mehr zu Bordeaux und Anilinblau haben sollen (Pappenheim), mag hier Erwähnung finden. Die besondere Affinität des Viktoriablau, resp. Wasserblau zu elastischen Fasern (Methoden s. Kollagen) wie des nahe verwandten Karminblau zum Ektoplasma, resp. Kutikularsubstanz wird erklärt durch den grossen Komplex von Phenylgruppen, welche den basisch konstituirten Körpern ziemlich stark saure Eigenschaften verleihen (Pappenheim) und ähnliche Gründe wirken vielleicht mit bei dem für das Elastin charakteristischen Orceïn.

Haben so die Färbungen mit einzelnen Farben eigentlich nur in einem Falle eine mehr weniger Reaktionsfärbung (Methylgrün für Kernnukleïn) und sonst nur sehr weite Grenzen für die Basen- und Säurekapacität der einzelnen Stoffe geliefert, wird durch Färbung aus heterogenen, sauren und basischen, Farbgemischen die Möglichkeit viel feinerer Abstufung zur Erkennung der Acidität und Basicität geliefert, wenn auch hier die Fehlerquellen, die aus den gleichzeitigen, verschiedenen physikalischen Verhältnissen herrühren, in ähnlicher Weise, wie es für die homogenen Gemische geschildert, ungleich grösser sind.

So ist z. B. der saure Farbstoff meist dem basischen gegenüber im Nachtheil. Die verschiedene Granulagrösse ist nicht ausser Acht zu lassen. So zeigten z. B. in Säurefuchsin-Methylenblau Albumose-Granula in 1%iger Chromsäure gefällt, die sich eigentlich nur mit Säurefuchsin roth färben sollten, die kleinen Granula anfangs nur am Rande, später ganz blauviolett (Fischer). (Möglicherweise auch der Farbstoff der neutralen Farbe s. u.)

Weiter ist der Einwurf Fischer's nicht ganz ausser Acht zu lassen. dass die Kerne wohl eine schwache Abneigung gegen saure Farben besitzen, während sie von den basischen sofort gefärbt werden, dass aber die Färbung des Plasmas mit sauren Farben nur durch ihre schnellere Diffusionsfähigkeit zustande käme.

Viele von diesen Fehlerquellen lassen sich vermeiden, wenn man zu chemisch-elektiven Zwecken vor allen Dingen aus recht verdünnten wässerigen Lösungen färbt, was schon wegen der hohen Dissociationskraft des Wassers Vortheile bietet. — Beim Zusammenbringen der Farbstoffe findet im allgemeinen eine chemische Verbindung, die Bildung eines neuen neutralen Farbstoffes, statt, der jedoch nur wasserlöslich ist, wenn der eine oder andere Farbstoff im geringen Ueberschuss vorhanden ist. Da der saure Farbstoff meist das schwächere Tinktionsvermögen besitzt, wird er meist im Ueberschuss zugesetzt, während z. B. bei der Methylenblaueosinmischung statt des besonders stark färbenden Eosins das basische Methylenblau im Ueberschuss vorhanden ist (Pappenheim). So sind aus solchen Lösungen Färbungen mit drei Farbstoffen möglich: mit der Neutralfarbe und den im allgemeinen durch die Gewebe von ihm abgespaltenen ursprünglichen sauren und basischen Farbstoffen.

Wie sehr es aber bei solchen Mischungen auf die genaue Kenntniss der Farben ankommt, mag aus folgendem Beispiel ersichtlich sein (Pappenheim). Mischt man eine koncentrirte Lösung von Methylenblau, dem salzsauren Salz einer schwefelhaltigen Farbbase, tropfenweise allmählich so weit mit einer koncentrirten Lösung von Säurefuchsin, dem Natronsalz der Rosanilinmonosulfosäure, bis der gebildete dichte Niederschlag des neutralen Farbstoffes eben wieder gelöst ist, wozu etwa 1 Vol. blauer und 5 Vol. rother Farblösung erforderlich sind, so bildet sich eine leicht lösliche triacide Verbindung des Methylenblau, bei der alle drei basischen Gruppen gesättigt sind; schon durch Ueberschuss von Wasser wird diese triacide Verbindung leicht in schwer lösliches monacides Methylenblau und die freie Rosanilinsulfosäure verwandelt. — In praktischer Hinsicht eignen sich zu solchen neutralen Gemischen von den Farbbasen nur diejenigen, welche die Ammoniumgruppe enthalten, wie Methylgrün, Methylenblau, Amethyst, Pyronin, Rodamin etc., ungeeignet sind besonders Triphenylmethane (Fuchsin, Malachitgrün, Methylviolett, Vesuvin, Phosphin) und Indazine (Safranin, Neutralroth), von sauren Farbstoffen sind am besten geeignet möglichst stark diffundirende unechte und leicht lösliche Salze, Orangegelb, Narceïn, Säurefuchsin. Von den übrigen kommt nur noch das Eosin in Betracht (Pappenheim).

Aus solchen Gemischen reissen nun ganz allgemein die Kernnukleïne, entsprechend ihrer voraussichtlich grossen Basenkapacität, stets die sauren, das Plasma entsprechend etwa der Heidenhain'schen Feststellung, dass die Säurekapacität des Serumalbumins grösser als seine Basenkapacität, den sauren Farbstoff an sich. Methylenblausäurefuchsin je 0,1 Grm. auf 100 Grm. Wasser färbt das Kerngerüst (Spermatozoidenköpfe und Pflanzenzellen) blau, Plasma, Nukleolen (Spermatozoidenschwänze und Mittelstück) roth. Die Färbung ist nach 20stündiger Behandlung mit 0,3%iger Salzsäure und kurzem Auswaschen mit Wasser bei frischem, mit Alkohol bei Alkoholmaterial in allen Theilen viel intensiver. — Nur wenn so das chemische Verhalten festgestellt, ist es angängig, etwa erst mit Methylenblau zu färben und dann zugleich mit Säurefuchsin eine saure Beize (Tannin) hinzuzufügen. wodurch meist nur die schwach basophilen Elemente verstärkt und nun das Methylenblau fester an ihnen haftet, während das übrige durch das Säurefuchsin gefärbt wird (s. pag. 609). Nicht zu empfehlen um allgemeine Basicität, resp. Acidität eines Gewebes festzustellen sind Gemische, welche als einzigen basischen Farbstoff nur das Methylgrün enthalten, wie z. B. das

sonst sehr brauchbare Ehrlich'sche Methylgrünorangesäurefuchsin (vergl. Blut) oder in der Biondi'schen Modifikation (vergl. Biondi), da ja damit nur Substanz von höchster Basenkapacität festgestellt werden kann (Pappenheim[44], Mosse[45]). Dafür scheint das Gemisch mit Methylenblau statt Methylgrün sehr brauchbare Resultate zu liefern, wenn auch immer die grosse »Deckkraft« des Methylenblau zur Vorsicht mahnt. Kann auch hier nicht auf die mehr klinischen Untersuchungen der einzelnen Zellengranulationen (s. Blut, Malariaparasiten und Mastzellen) eingegangen werden, muss doch auf die dabei in Erscheinung tretenden sogenannten neutrophilen Granulationen hingewiesen werden, die sich aus solchen Gemischen in der Farbe des Neutralstoffes färben und denen demnach wohl eine ziemlich gleichmässige Säuren- und Basenkapacität zuzuschreiben ist. Ebenso das Chromatin der Nervenzellen. Mosse. (Ueber den Zusammenhang der eosinophilen Granulationen mit ihrem Gehalt an basischem Histon vergl. Kossel 1894.) Eine gewisse Beachtung hat in letzter Zeit zur Entscheidung mikrochemischer Fragen (Nocht's Malariaplasmodien) die Romanowsky'sche Eosinmethylenblaumethode gefunden. Das hierbei zu verwendende Methylenblau muss schon enthalten (polychromes Methylenblau) oder es muss erst in ihm erzeugt werden: das Roth aus Methylenblau = Methylenazur, ein Farbstoff von bisher nicht aufgeklärter Konstitution (Formel nach Bernthsen s. pag. 798). Das Neutralgemisch enthält also zwei Neutralfarben, Methylenblaueosin und Methylenazureosin. Mit Methylenazur färben sich nun mit grosser Vorliebe elektiv besonders ausgezeichnete, sonst meist schwer färbbare basophile Substanzen, zumal die Kerngebilde der in diesem Gemisch sich blau färbenden Malariaplasmodien im Blute, weiter alle neutralen Granulationen, Mastzellenkörner, weiter Mucin und Pseudomucin, die degenerirten »Nukleoïde« und freie Blutplättchen. Dies wird vielleicht durch seine Konstitution bedingt, als Sulfonfarbstoff mit gewissen sauren Eigenschaften im Molekül. Alles das legt die Vermuthung nahe, dass er als ein gutes Erkennungsmittel für Eiweissstoffe mit besonders schwacher Basen- und Säurekapacität dienen kann. Für Unterscheidungen von Eiweissstoffen mit starken Affinitäten zumal zur Unterscheidung zwischen Nukleïn und Nichtnukleïn scheint diese Färbemethode jedoch besonders ungeeignet zu sein.

Laufen so auch, soweit bis jetzt zu sehen, die färbungsanalytischen mikrochemischen Reaktionen der Eiweissstoffe in der Zelle ausschliesslich auf eine Feststellung saurer und basischer Affinitäten heraus, wird es vielleicht möglich sein, allein aus ihnen auch ohne Beziehung zum makrochemisch dargestellten Körper wichtige biochemische Folgerungen über die in der Zelle agirenden Elektroposition und negativen Kräfte abzuleiten.

Litteratur: [1]) Cohnheim (Die Eiweissstoffe in Roscoe-Schorlemmer's Lehrbuch der organischen Chemie, Bd. 7, 1901), [2]) (Kossel und Kutscher (Zeit. f. phys. Chemie, 31), [3]) Heidenhain (Pflüger's Arch., 90, 1902), [4]) Fischer (Fixirung etc. des Protoplasma, Jena 1899), [5]) Kossel (Ber. d. deutschen chem. Ges., 1901), [6]) Bertel (Ber. d. deutschen bot. Ges., 1902), [7]) Iwanoff (Ber. d. deutschen bot. Ges., 1902), [8]) S. Hilaire (Zeit. f. phys. Chemie, 26, 1898), [9]) Kossel (Zeit. f. phys. Chemie, 7), [10]) Lilienfeld (Zeit. f. phys. Chemie, 18, 1893), [11]) Miescher (Verh. d. naturf. Ges., Basel, 6, 1878), [12]) Tichomiroff (Zeit. f. phys. Chem., 9, 1885), [13]) Lilienfeld und Monti (Zeit. f. phys. Chemie, 17), [14]) Pollacci (Malpighi, 8, 1894), [15]) Raciborski (Bot. Zeit., 1893), [16]) Heine (Zeit. f. phys. Chemie, 22, 1896), [17]) Macallum (Proc. of Roy. Soc., 50, 1892), [18]) Zimmermann (Morphologie u. Physiologie d. pflanzlichen Zellkern, Jena 1896), [19]) Gilson (Brit. Assoc. f. Advanc, Edinburgh 1892), [20]) P. Mayer (Mit. Zool. St Neap., 12, 1896), [21]) Schwarz (Cohn's Beitr. Biol. d. Pfl., 5, 1892), [22]) Zacharias (Ber. d. deutschen bot. Ges., 16, 1898), [23]) Heine (Zeit. f. phys. Chemie, 21, 1896), [24]) Miescher (Physiol. Unters. über d. Lachsmilch, Leipzig, 1896), [25]) Zacharias (Ber. d. deutschen bot. Ges., 14, 1896), [26]) Zacharias (Ber. d. deutschen bot. Ges., 1901), [27]) van Wisselingh (Bot. Zeit., 1898, 1899. Flora, 87, 1900), [28]) von Wasielewski (Zeit. f. wiss. Mikroskopie, 16, 1898), [29]) J. Reinke (Unters. bot. Inst., Göttingen, 2, 1881), [30]) Zacharias (Ber. d. deutschen bot. Ges., 1902), [31]) Zimmermann (Zeit. f. wiss. Mikroskopie, 12, 1896), [32]) van Wisselingh (Bot. Zeit. 1902), [33]) Fischer (Bau d. Bakterien etc., Jena 1897), [34]) Zacharias (Abhandl. Naturwiss., Hamburg, 16, 1900), [35]) Flemming (Arch. mikr. Anat., 18, 1880), [36]) Pappenheim (Farbchemie etc., Berlin 1901), [37]) Bogomolow

(Petersb. med. Wochenschr., 1894), [38]) MALFATTI (Zeit. f. phys. Chemie, 1892), [39]) LILIENFELD (Arch. Phys., 1893), [40]) ZACHARIAS (Ber. d. deutschen bot. Ges., 1893), [41]) TISCHLER (Ber. d. deutschen bot. Ges., 1902), [41a]) AUERBACH (Kgl. Preuss. Akad. Wiss. 1890 und 1891), [42]) ROSEN (COHN's Beitr. Biol. d. Pfl., 5, 1892), [43]) SCHOTTLÄNDER (COHN's Beitr., 6, 1894), [44]) MOSSE (Berliner klin. Wochenschr. 1902), [45]) PAPPENHEIM, ibid. *Magnus*, Berlin.

Zellmembrane, pflanzliche. 1. Membranstoffe. *a)* Cellulosemembrane. Den Hauptbestandtheil der meisten pflanzlichen Zellmembrane (mit Ausnahme der Pilze) bilden verschiedene unter dem Gesammtbegriff Cellulose zusammengefasste Polysaccharide von der Formel $(C_{12}H_{20}O_{10})_x$. Ihr typisches Lösungsmittel ist Kupferoxydammoniak (Schweizers Reagens). Es wird am besten frisch hergestellt in fest schliessendem Kolben, auf dessen Boden Kupferspäne gerade von konc. Ammoniak bedeckt sind. Man lässt durch leichtes Neigen die Flüssigkeit wiederholt über die Späne fliessen. (Ebenso kann ältere Flüssigkeit durch Giessen über Kupferspäne wieder aufgefrischt werden.) Die Flüssigkeit ist brauchbar, wenn sie Watte (ziemlich reine Cellulose) in kürzester Zeit löst. In dünnen, mit dieser Lösung behandelten Schnitten ist nach 3—4 Tagen (oft genügen auch 4—5 Stunden) alle Cellulose entfernt, ausser dass sie noch in Spuren in den verholzten Zellwänden (s. unten) vorhanden ist. Man verdünne mit reinem Wasser oder wasche mit Ammoniak aus, wasche dann die nun leicht zerfallenden Schnitte aus mit (3—5%) essigsaurem Wasser, um alles Kupfersalz zu entfernen. Cellulosereaktion tritt nicht mehr ein. In koncentrirter Schwefelsäure löst sich die Cellulosemembran unter Verwandlung in Dextrose. Zur Darstellung der reinen Cellulose in den Zellwänden werden Schnitte in zugeschmolzenen Glasröhren im Oelbad entweder in Wasser auf 150° oder in Glycerin auf 300° erwärmt (WISSELINGH 1898).

Die Cellulosereaktionen sind: 1. das Verhalten gegen Jodreagentien. Jodlösung färbt blau bis violett die durch Schwefelsäure, Phosphorsäure, Chlormetalle, unter Umständen auch durch konc. alkoholische Kalioder Natronlauge in Amyloid (Hydrocellulose) umgewandelte Cellulose. Man lege die zu untersuchenden Schnitte z. B. in Jodjodkalium und füge verdünnte Schwefelsäure 2 : 1 hinzu: intensive Blaufärbung. In dem am häufigsten gebrauchten Cellulose violett färbenden Chlorzinkjod (s. dasselbe) sind die beiden wirksamen Bestandtheile vereint. Die Färbung ist in diesen Fällen nicht beständig. — Jodwasserstoffsäure rauchend färbt gleichfalls Cellulose, die Färbung bleibt beständig nach Zusatz von Tropfen jodirter Chlorcalciumlösung (CUTOLO). Andere Jodreaktionen siehe bei MANGIN 1888.

2. Färbung mit Azurfarbstoffen in saurem Bad, die immer am besten eintritt, wenn in den Schnitten die Cellulose durch konc. Natron- oder Kalilauge in Hydrocellulose überführt wird und dann natürlich neutralisirt werden muss. Die wichtigsten Farben u. a. sind Orsellin B. B., Orseilleroth A.

3. Im alkalischen Bad (u. a.) Kongoroth, Benzopurpurin, Brillantpurpurin. Kongoroth eignet sich besonders gut zur Färbung jugendlicher Cellulosemembrane; 24 Stunden in wässeriger Lösung (MANGIN 1892, STRASBURGER). Hier jedoch wie bei den unterscheidenden Färbungen im Folgenden ist zu betonen, dass, so werthvoll sie auch für Unterscheidungen und Nachweisungen im einzelnen, fast nie mit absoluter Sicherheit mikrochemische Schlüsse ziehen lassen, sowohl nicht aus der Farbenintensität auf die Quantität des Stoffes, noch überhaupt auf seine Anwesenheit. So färbt z. B. das für Cellulose sehr charakteristische Kongoroth gereinigte Watte (fast reine Cellulose) schwächer, wie oft wenig cellulosehaltige Membranen und ausser Cellulose unter Umständen auch Kallose und Chitin (s. unten) (WISSELINGH 1898, CHALON). Ueber Färbung der Cellulosefaser vergleiche auch unter Färbung pag. 316.

In gleicher Weise wie gewöhnliche Cellulose verhält sich Reservecellulose, eine in Samen verbreitete, bei der Keimung sich auflösende Reservesubstanz, z. B. im Dattelendosperm (REISS, GRÜSS).

Alle gewöhnlichen nicht verholzten oder verkorkten Membrane enthalten neben der Cellulose eine zweite Gruppe wichtiger Stoffe, die Pektinverbindungen, die nach Entfernung der Cellulose durch Kupferoxydammoniak charakteristische Reaktionen geben, aber auch bei deren Anwesenheit den Membranen einige wichtige Reaktionen verleihen. Pektinstoffe lösen sich leicht nach vorhergehender Behandlung mit verdünnten Säuren in Alkalien.

So werden sie aus der Membran entfernt durch $^1/_2$stündiges Kochen in 2 $^0/_0$iger H Cl, Auswaschen, dann langes Kochen in einer Lösung 2 $^0/_0$iger K O H und Auswaschen. Durch das Cellulose entfernende Kupferoxydammoniak werden alle Pektinverbindungen in Pektinsäuren verwandelt, die in Ammoniumoxalat lösbar sind. — Die Pektinverbindungen werden charakteristisch metachromatisch gefärbt im neutralen oder schwach angesäuerten Bad ($^1/_2$ bis 1 $^0/_0$ Essigsäure), hauptsächlich durch Safranin, Methylenblau, Bleu de nuit und krystallisirtes Naphtylenblau R. Während Safranin die plasmatischen Zellbestandtheile, verholzte, verkorkte und kutinisirte Membranen kirschroth färbt, nehmen die Pektinverbindungen orangegelbe Färbung an. Methylenblau, Bleu de nuit färbt Pektin violett, während das Uebrige blau gefärbt wird, besonders scharf bei Naphthalinlicht (vergl. Metachromasie, pag. 797). Gefärbte Pektinverbindungen werden durch Alkohol, Glycerin oder Essigsäure schnell entfärbt, während die übrigen Zellbestandtheile den Farbstoff fester halten. Hingegen ist unlöslich in Alkohol, Glycerin und Nelkenöl, also für Dauerpräparate sehr geeignet, das in Wasser lösliche prächtig rothe Rutheniumroth (Ammoniakalisches Rutheniumsesquichlorid), welches ausschliesslich pektinhaltige Membran intensiv färbt, ebenso die von Pektinverbiudungen abstammenden Schleime, wie die der Malvaceen und Amygdaleen, Kirschgummi (s. Schleime, pflanzliche). Auch im neutralen Bad nicht Pektinstoffe, wohl aber verholzte oder verkorkte Membrane färben Säuregrün, Säurebraun u. s. w., während Orseilleroth A, Naphtholschwarz, Kongoroth Cellulose, aber nicht Pektin färben und sich so zu Doppelfärbungen eignen (s. auch unten) (MANGIN, 1890 u. 1893, STRASBURGER). Der Gehalt der Zellmembran an Pektinstoffen bedingt auch ihre starke Anziehungskraft für Hämatoxylin, etwa BÖHMER und DELAFIELD, im Gegensatz zu den verholzten oder verkorkten Membranen, die ungefärbt oder schwach gefärbt bleiben, ebenso wie die unbehöften Membrantüpfel parenchymatischer Gewebe, die sich so sehr scharf von der übrigen Membran absetzen. Ebenso bedingt der Pektingehalt des Schliesshauttorus der Hoftüpfel ihre intensive Färbung 1. in Hämatoxylin, 2. in Rutheniumroth (ZIMMERMANN, DIPPEL).

Hauptsächlich aus Pektinstoffen, anfänglich Pektinsäuren, später meist Kaliumpektat, besteht die Mittellamelle (Intercellularsubstanz) der Zellwände. Sie färbt sich mit den genannten Farbstoffen (zumal Rutheniumroth und Methylenblau zu empfehlen) gleich nach ihrem Auftreten (durch Spaltung der primären Wände) im Meristem, Calciumpektat wird zu ihrem Nachweis zweckmässig in Pektinsäure verwandelt, indem durch Behandlung mit Salzsäure und Alkohol (1 : 3) etwa 24 Stunden der Kalk in Chlorcalcium übergeführt wird. Nach Entfernung der Pektinsäure durch Ammoniumoxalat (oder auch Ammoniak) (s. oben) trennen sich die Zellen leicht von einander (s. Macerationsverfahren pflanzlicher Gewebe) (E. ALLEN).

b) Verholzung. Wasserleitende Zellen (Tracheen, Tracheïden) und mechanische (Bast- und Steinzellen) sind oft in Kupferoxydammoniak unlöslich, dagegen löslich in koncentrirter Schwefel- und Chromsäure und Kalilauge und geben mit Jod u. s. w. keine Reaktion. Sie werden als ver-

holzt bezeichnet. Sie entstehen immer aus Cellulosemembran und können verholzt noch bis 60% Cellulose besitzen, die leicht nach Entfernung der Verholzung durch SCHULZ'sches Macerationsgemisch (siehe Macerationsverfahren) oder JAVELLE'sche Lauge (s. Aufhellung pflanzlicher Gewebe) nachgewiesen wird. Der die Unlöslichkeit in Kupferoxydammoniak bewirkende, bis jetzt hypothetische Stoff wird Lignin genannt. Verholzte Membranen weisen hauptsächlich mit Phenolen und freien Säuren einige charakteristische Farbenreaktionen auf. Durch Phloroglucin und HCl werden sie roth gefärbt: Dünne Schnitte werden mit Alkohol, in dem ein Körnchen Phloroglucin gelöst, dann mit HCl behandelt. Anilinsulfat (1%) und H_2SO_4 (ein Tropfen) färben sie intensiv gelb. Während diese Reaktionen bei Licht nicht haltbar, hält sich in Glyceringelatine oder Kanadabalsam die Gelbfärbung mit Thalliumsulfat. Alkoholgehärtete Schnitte werden in einer frisch bereiteten konc. Lösung 1 Vol. Thalliumsulfat + 1 Vol. H_2O + 1 Vol. absoluten Alkohol gefärbt (HEGLER). Unwichtiger Indol und HCl kirschroth, Scatol und HCl violett (Fichtenspanreaktion der physiologischen Chemie). (Zur Demonstration: gewöhnliches holziges Zeitungspapier im Gegensatz zum holzfreien feinen Schreibpapier. WIESNER, ZIMMERMANN.) Diese Reaktionen werden bedingt durch die Anwesenheit eines Aldehyds, das aber nicht das das Holz gleichfalls konstant begleitende Vanillin, resp. ihr Glykosid (Koniferin, Abietin) ist. Die chromogene Substanz ist vielmehr das Hadromal, das mit der Cellulose wahrscheinlich eine chemische Verbindung, Hadromalcellulose, eingeht (CZAPEK). Da nach Zerstörung dieses Aldehyds durch Hydroxylamin (1/4—1 Stunde) die oben genannten Reaktionen nicht mehr eintreten, die Unlöslichkeit aber bleibt, ist das Aldehyd nicht der verholzende Stoff. So behandelte Membranen, natürlich ebenso wie nicht vorbehandelte, geben aber eine sehr charakteristische Reaktion mit übermangansaurem Kali. Nach 2 bis 8 Minuten langer Behandlung mit 1%iger wässeriger Lösung, oberflächlichem Auswaschen in Wasser, Entfärben mit verdünntem HCl etwa 2 Minuten lang, werden nur die verholzten Elemente in Ammoniak schön weinroth, während die übrigen Zellen gelb bleiben (bei Dikotylen, resp. Koniferenholz dunkelbraungelb, während die übrigen Zellen weiss bleiben). Die Reaktion ist besonders scharf, da durch sie die plasmatischen Inhaltsgebilde zerstört werden (MÄULE).

MILLON'sches Reagenz giebt Reaktionen, wie auch bei andern Membranen, so namentlich bei den verholzten (besonders stark bei denen der Bromeliaceen), dies ist aber nicht einem Eiweiss oder Plasmagehalt, sondern dem Tyrosin zuzuschreiben (CORRENS). Jodreagentien färben die verholzten Membranen gelb. Ueber Gerbstoffgehalt nicht leitungsfähiger Holzzellen vergl. Gerbstoffe in Pflanzen.

Im Gegensatz zu den unverholzten Membranen nehmen die verholzten Membranen einige Farben an, resp. färben sich mit andern Farbentönen. Es sind dieselben Farben, welche in der Färberei Wolle und Seide subjektiv, also ohne Hilfe von Beizen färben (VINASSA).

Von vielen charakteristischen Färbungen sind doch nur wenige haltbar. In wässeriger Fuchsinlösung (oder Säurefuchsin) werden Schnitte über eine Viertelstunde gefärbt, in Pikrinsäurelösung (ALTMANN) (1 Th. konc. Pikrinsäure, 2 Th. Wasser mit Alkohol) gründlich ausgewaschen. — Anilinwassersafranin (1/2 koncentrirt Safranin, Alkohol löslich + 1/2 Anilinwasser) färbt die verholzten Membranen kirschroth. Letztere in Säurealkohol leicht zu entfärben, während die verkorkten Wände gelbroth gefärbt bleiben. Auch Methylgrün giebt, wenn auch nicht so haltbare, doch sehr schnell charakteristische grünblaue Farbentöne. In Doppelfärbungen zur Andersfärbung der unverholzten Membran ist Methylgrün mit Hämatoxylin oder Rutheniumroth (s. oben) vortheilhaft zu kombiniren, während mit Safranin noch Methyl-

blau. Berlinerblau (1 Stunde Färbung, Auswaschen mit Alkohol) empfohlen werden. Eine schöne Doppelfärbung giebt auch Solidgrün (verholzte) und Deltapurpurin (unverholzte Membran) (ZIMMERMANN, STRASBURGER).

c) Die verkorkten Membranen sind, wie die verholzten in Kupferoxydammoniak unlöslich, aber gleichfalls unlöslich in koncentrirter Schwefel- und Chromsäure und Kalilauge; letztere färbt sie in der Kälte gelb, während in der Hitze zusammenhängende gelbe Tropfen entstehen. Im Einzelnen wird unterschieden zwischen den eigentlich verkorkten Suberinlamellen der Wände (Demonstrationsobjekt: Flaschenkork von Quercus) und den kutikularisirten der Kutikula (Demonstrationsobjekt: Querschnitte durch das Blatt von Clivia nobilis oder Chlorophytum), die jedoch nur wenig differiren, nur dass letztere sich im allgemeinen schwächer färbt (WISSELINGH 1895). Der der Membran eingelagerte und die Verkorkung bedingende Stoff, das Suberin, resp. Kutin ist ein fettartiger Körper. So wird auch die Membran durch Osmiumsäure dunkelgebräunt bis geschwärzt, sie färbt sich intensiv, wenn auch langsam in Alkannatinktur (s. Oele, pflanzliche). So erklärt sich auch ihre charakteristische Färbung mit Chlorophyllfarbstoff (s. Chromatophorenfarbstoffe der Pflanzen), während alle übrigen Zellwände ebenso wie in Alkannin ungefärbt bleiben.

Koncentrirte alkoholische Chlorophylllösung wird am besten hergestellt durch Zerreiben kleingeschnittener Blätter (Gras) mit Sand, dann lässt man absetzen und giesst ab. In durchscheinendem Licht ist die Lösung dunkelgrün, in auffallendem dunkelroth, sie ist im Dunkeln in fest verschlossenen Gläsern aufzubewahren und hält sich auch dann nicht lange. Zur Färbung genügt meist $^1/_4$ Stunde. Gewisse Vortheile (längere Haltbarkeit, schnellere und differente Färbung) bietet das Prodigiosin: Färbung 10 Minuten, Auswaschen in 95%igem Alkohol, Konserviren in Glyceringelatine oder Kanadabalsam. Darstellung: Kulturen von Bacterium prodigiosum LEHM. et NEM. (Bacillum prodigiosum FLÜGGE), käuflich bei KRAL in Prag, wird auf Kartoffelscheiben bei 25° 4—5 Tage kultivirt, die reichlichen Bakterienmassen in wenig 95%igen Alkohol gebracht und filtrirt (ROSENBERG).

Gegen Anilinfarben verhalten sich verkorkte Zellen ähnlich den verholzten, färben sich jedoch öfters etwas schwerer und in andern Tönen, z. B. in dem sehr empfehlenswerthen Anilinwassersafranin (s. oben). — Sudan III färbt nur verkorkte stark, verholzte nicht oder sehr schwach, Cellulose gar nicht (BUSCALIONI).

d) Kallose (= Kallus). Als typischer Belag älterer Siebtüpfel, aber vielfach auch sonst verbreitet (Pollenschläuche, Pilzhyphen) findet sich die Kallose, die unlöslich in Wasser, Alkohol, Kupferoxydammoniak, sich leicht in 1%igem Aetznatron oder Kali löst und durch starke Tinktionsfähigkeit gegen Korallin (Rosolsäure) und Anilinblau ausgezeichnet ist. Korallin wird zu 1% in einer ca. 30%igen Sodalösung angewandt. Anilinblau in verdünnter wässeriger Lösung. Beide werden in Glycerin differenzirt, erstere kann auch vorher bei Ueberfärbung (nach ZIMMERMANN) in 4%iger Sodalösung ausgewaschen werden. Der eiweisshaltige Inhalt der Siebröhren wird, gegenüber dem Blau, zweckentsprechend mit Eosin gefärbt (s. Eiweisstoffe der Pflanzenzelle und Siebröhren).

e) Chitin. Viele Pilzmembranen und die Zellwände der Cyanophycaeen (Blaualgen) zeigen hohe Resistenz gegen Kupferoxydammoniak, Alkalien und Säuren und keine Cellulosereaktion mit Jodreagentien. Dies wird von einigen Autoren der Anwesenheit von Chitin (oder chitinähnlicher Substanz) zugeschrieben. Zu seinem Nachweis werden die zu untersuchenden Hyphen in zugeschmolzenen Glasröhren in koncentrirter Kalilauge im Oelbad auf 160° erhitzt, nach Abkühlung untersucht in 90%igem Alkohol. Das Chitin ist dann in Mycosin überführt, das mit Jodjodkalium und sehr verdünnter Schwefelsäure rothviolett, mit Chlorzinkjod blauviolett gefärbt wird. Es ist löslich in $2^1/_2$%iger Salzsäure. Es färbt sich in Brillantblau in saurer, in Kongoroth in ammoniakalischer Lösung (WISSELINGH 1898, HEGLER 1901).

f) Die verschleimten Membranen in allen Uebergängen von fester Konsistenz zu eigentlichem Schleim zeigen das Verhalten der festen Membranstoffe. Näheres s. Schleime, pflanzliche.

g) Die Zellwände der Laubmoose geben erst Cellulosereaktion nach Kochen mit Kalilauge, aber meist Reaktion mit MILLON's Reagens, bedingt durch Sphagnol, einem phenolähnlichen Körper (CZAPEK). — Auch in den Zellwänden der Peridineen scheint die Cellulose mit einem anderen Stoff imprägnirt zu sein, da sie erst nach längerer Einwirkung von Schwefelsäure Reaktion geben (SCHÜTT).

h) Anorganische Stoffe sind häufig älteren Membranen eingelagert, wie sie z. B. als Silikat einen Hauptbestandtheil der Diatomeenschalen bilden. (Vergl. Diatomeen.) Sie werden sichtbar gemacht durch Veraschung auf dem Platinblech.

2. Membranwachsthum. Zum Aufschluss über die Art der Bildung und des Wachsthums der Membran lassen sich in einigen Fällen durch Farbstoffeinlagerungen bei lebenden Zellen Aufschlüsse erzielen. Die sich um isolirte Plasmaballen zerschnittener Vaucheriafäden bildenden Membrane werden in 1⁰/₀iger Rohrzuckerlösung mit 0,01⁰/₀ Kongoroth im Entstehen scharf gefärbt, ebenso wie sich bei anderen Algen, in der gleichen Flüssigkeit kultivirt, die neugebildeten Schichten scharf gegen die alten abheben (KLEBS). — Bei Wurzelhaaren von Lepidiumkeimlingen, die $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde in gleiche Lösung gebracht, dann im Dunkeln weiter kultivirt werden, entreissen die älteren den neu entstehenden Schichten den Farbstoff (ZACHARIAS). Umgekehrt werden bei folgendem Verfahren die älteren Membranen gefärbt, während die neugebildeten farblos bleiben: Von der im Mittelmeer sehr verbreiteten Siphonee Caulerpa werden kräftige Sprosse für sehr kurze Zeit in ein Gemisch von Seewasser und Süsswasser 1 : 2 getaucht, dem soviel Ferrocyankalium zugesetzt ist, dass die Lösung das specifische Gewicht des Seewassers besitzt. Dann werden sie rasch in reinem Seewasser abgespült und für $^1/_2$—2 Sekunden in ein See- und Süsswassergemisch 2 : 1 gebracht, dem einige Tropfen Eisenchlorid zugesetzt sind. In der Membran entsteht ein Niederschlag von Berlinerblau. (Aehnlich kann auch durch Ferrocyankalium und milchsaures Eisenoxydul TURNBULL's Blau hervorgerufen werden.) Wächst nun die Alge unter günstigen Bedingungen weiter, werden farblose den gefärbten Schichten apponirt (NOLL). — Zur Untersuchung der ersten Bildung der Membran bei der Theilung durch Spaltung der Verbindungsfasern eignet sich am besten in FLEMMING'scher Flüssigkeit fixirtes und in FLEMMING'schem Dreifarbengemisch gefärbtes Material (s. Pflanzliche Kerntheilung). Auch die Entstehung neuer Lamellen in ihrem Verhältniss zum Plasma, die Bildung von Verdickungen, Membranbildung im Zellinnern u. s. w. werden durch FLEMMING'sche Färbung sehr klar zum Ausdruck gebracht, indem der bräunliche Ton des Plasmas sich scharf von dem bläulichen »aktivirten Filarplasma« und dem Blau der jungen Cellulosemembran abhebt, während durch das Safranin die verschiedenen Qualitäten der Membran gut differenzirt werden. Zur Fixirung solcher älteren Partien verdient jedoch Alkoholfixirung gegenüber der FLEMMING'schen, die oft ein gewisses Verquellen hervorruft, den Vorzug (STRASBURGER 1898).

3. Membranstruktur. Die feinere Struktur der Membran, die Streifungen und Querlamellirungen können durch verschiedene Ursachen bedingt sein. Handelt es sich nur um eine Skulptur, so wird dieselbe desto schärfer hervortreten, je differenter der Brechungsexponent des Untersuchungsmediums ist; je ähnlicher er ist, desto mehr werden sie verschwinden. Ein Medium von ziemlich gleichem Brechungsindex, wie Cellulose $^nD = 1{,}05$ ist Natriumsalicylat mit Nelkenöl. Darstellung: Setzt man zu 6 Tropfen Salicylat tropfenweise Nelkenöl hinzu, tritt etwa beim 20. Tropfen

Trübung ein, die durch 1 Tropfen Salicylat wieder beseitigt wird (Lenz). Weiter wird es wenig Unterschied machen, ob die Objekte feucht oder trocken zur Beobachtung gelangen. Beruht die Membranstruktur dagegen auf ungleichem Wassergehalt der Schichten, so wird sie beim Austrocknen (bei 50—100°) mehr oder weniger verschwinden. Weiter speichern aus getrocknetem Zustand die wasserreichen Schichten mehr in Flüssigkeit gelöste Salze, die dann in einen gefärbten Niederschlag verwandelt werden können. So lässt man die ausgetrockneten Objekte für wenige Minuten mit 10%iger Lösung von Ferrocyankalium imbibiren, trocknet sie oberflächlich ab und taucht sie in Eisenchloridlösung. Es entsteht Berlinerblau. Ebenso lässt sich durch Eintragen der Objekte in 2—5%ige Lösung von Silbernitrat, Uebertragen in physiologische Kochsalzlösung und Belichten ein Niederschlag von Chlorsilber erzeugen. Für beide Methoden werden Bastfasern von Vinca und Nerium empfohlen. Schliesslich können die Membrandifferenzirungen auch auf chemische Unterschiede beruhen, die dann beim Austrocknen in gleicher Weise zu beobachten sein müssen. Hier werden dann auch geeignete Färbungen (s. oben) die Unterschiede noch deutlicher hervortreten lassen. In einigen Fällen ist Methylenblau oder Hämatoxylin besonders geeignet (Correns 1892).

Viel bestritten wird die Zuverlässigkeit der interessanten Methode Wiesner's, die vegetabilische Membran in feinste Strukturbestandtheile: »Dermatosom« zu zerlegen, das »Zerstäubungsverfahren«. Geeignete Objekte, z. B. Leinenfasern, werden für 24 Stunden in 1%ige Salzsäure gelegt, abgetrocknet und auf 50—60° erwärmt. Die Faser zerfällt dann schon nach leichtem Druck (Wiesner 1886).

Alle pflanzlichen Membrane sind doppelbrechend (vergl. Polarisationsmikroskop).

Litteratur: Strasburger (Gr. bot. Prakt., Jena 1897), v. Wisselingh (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 31, 1898), Cutolo (L'orosi, 1897), Mangin (Bull. de l. Soc. Bot. d. France, T. 35, 1888, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6), derselbe (Journ. bot., 1892), Chalon (Bull. d. Soc. roy. bot. Belge, 1898, Bd. 37), Reiss (Landwirthsch. Jahrb., Bd. 23, 1889), Grüss (Bibl. Bot., Bd. 39), Mangin (Compt. rend., T. 111, 2, 1890, ref. Zeit. wiss. Mikr., 7), derselbe (Compt. rend., T. 116, 1893), Zimmermann (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4), Dippel (Das Mikroskop, Bd. 2, 2. Aufl., 1896), Allen (Bot. Gazz., Bd. 32, 1901), Hegler, (Flora 1896), Wiesner (Sitzber. Ak. Wiss. Wien, 77, 1, 1878), Zimmermann (Bot. Mikrotechn., Tübingen 1892), Czapek (Zeit. phys. Chem., Bd. 28, 1899), Mäule (Beitr. wiss. Bot. v. Fünfstück, 1901), Correns (Jahrb. wiss. Bot., 27, 1894), Vinassa (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1892), Wisselingh (Arch. Nederl., 28, 1895), Rosenberg (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), Buscalioni (Bot. Centr., Bd. 76, 1898), Hegler (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 36, 1901), Czapek (Flora 86, 1899), Schütt (Bot. Zeit., 88, 1900), Klebs (Unters. d. bot. Inst. Tübingen, Bd. 2, 1887), Zacharias (Flora, 1891), Noll (Abh. d. Senckenberg. naturf. Ges., Bd. 15, 1887), Strasburger (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 31, 1898), Lenz (Zeit. wiss. Bot.-Min., 11), Correns (Jahrb. wiss. Bot., 23, 1892), Wiesner (Sitzber. Ak. Wiss. Wien, 93, 1. 1886).

Magnus, Berlin.

Zellsaftreaktionen siehe Intravitale Färbung pflanzlicher Zellen.

Zerstäubungsmethode siehe Zellmembrane, pflanzliche.

Zimmtöl siehe Cassiaöl.

Zinkchromat siehe Chromsaure Salze und Golgimethode.

Zinkchlorid, Chlorzink, Zinkbutter, Zincum chloratum, $Zn\,Cl_2$, bildet eine weisse, bröckelige, hygroskopische Masse. Es ist in dem dritten Theil seines Gewichtes Wasser und in gleichen Theilen Alkohols löslich mit stark saurer Reaktion.

Das Chlorzink hat früher in der makroskopischen Anatomie in ausgedehntem Masse zum Härten von Gehirnen in wässeriger Lösung gedient und wird auch heute noch zu diesem Zweck hie und da benutzt. Für mikroskopische Untersuchungen sind derartige Präparate absolut untauglich. Nur

ganz vereinzelt wird das Chlorzink in der Mikrotechnik noch angewandt, so setzt FISH zu einem 2,5%igen Formol 0,75% Chlorzink und 1% Kochsalz zu und empfiehlt diese Mischung zum Härten von Gehirnen. MAGINI ersetzt in der Golgimethode das Silbernitrat durch 0,1—1%ige Chlorzinklösung und will damit bessere Erfolge erzielt haben. GILSON empfiehlt zur Fixation der Spinndrüsen von Schmetterlingen eine Mischung von 5 Ccm. Eisessig, 5 Ccm. Salpetersäure, 20 Grm. Chlorzink, 100 Ccm. Alkohol (80%) und 300 Theilen Wasser. (Siehe auch Chlorzinkjod.)

Litteratur: FISH (Trans. Amer. Micr. Soc., Bd. 17, 1896), MAGINI (Bull. Ac. Med. Roma, 1886), GILSON (Cellule, Bd. 6, 1890).

Zinkjodat, $Zn J_2$, farblose, hygroskopische Krystalle, die in Wasser und Alkohol leicht löslich sind.

Durch Lösung von Zinkjodat in Glycerin erzielt man ein Einschlussmittel vom Brechungsindex 1,56.

Zinksulfat, Zinkvitriol, weisser Vitriol, Zincum sulfuricum, $Zn SO_4 + 7 H_2 O$, bildet farblose, rhombische Säulen, welche in Wasser bei 20° zu 161,5% löslich, in absolutem Alkohol fast unlöslich sind. Die wässerige Lösung reagirt sauer.

Ueber die Verwendung des Zinksulfats als Fixirmittel vergl. pag. 703.

Zinkweisslack, ein Deckglaskitt, der so bereitet wird, dass man 28 Grm. Damarharz mit 28 Ccm. Benzol und 2 Grm. Zinkweiss mit 2 Ccm. Benzol gut verreibt. Dann setzt man die Hälfte der ersten Mischung tropfenweise der zweiten zu, filtrirt durch Nesseltuch und verdünnt mit Benzol.

Zinnchlorür, Stannum chloratum crystallisatum, $Sn Cl_2 + 2 H_2 O$, entsteht durch Lösung von Zinn in koncentrirter Salzsäure und stellt farblose Prismen dar, die sich an der Luft bald zersetzen. Es ist in salzsäurehaltigem Wasser und Alkohol leicht löslich. Zinnchlorür vermag sehr energisch Sauerstoff aufzunehmen unter Bildung von Zinnchlorid und Zinnoxychlorür.

Das Zinnchlorür spielt unter dem Namen Zinnsalz eine grosse Rolle als Beize in der praktischen Färberei, weniger für sich allein als in Verbindung mit anderen Beizen (Weinstein, Oxalsäure), um den damit erzeugten Farblacken ein feurigeres Aussehen zu geben. Seine Hauptverwendung findet es in der Färberei mit Cochenille und Katechu.

In der Mikrotechnik hat das Zinnchlorür bis jetzt hauptsächlich Verwendung als Reduktionsmittel für Metallimprägnationen gefunden.

Zinnfolie, dünn ausgewalztes Zinn, wie es zur Herstellung von Farbtuben und ähnlichem dient, ist von LIEBREICH empfohlen worden an Stelle von Klemmleber, um frische Organstücke einzuhüllen und zu schneiden. Die Zinnfolie soll sich dabei sehr leicht mitschneiden, ohne Schaden für das Messer.

Zinnober, Mercurisulfid, Hydrargyrum sulfuratum rubrum, $Hg S$, findet sich entweder in der Natur oder wird aus Quecksilber, Schwefelblumen und Kalilauge dargestellt und bildet ein scharlachrothes Pulver, das in Wasser und Alkohol völlig unlöslich ist.

In der Mikrotechnik dient der Zinnober zur Herstellung rother, opaker Injektionsmassen.

Zucker in pflanzlichen Geweben. Traubenzucker, Glykose, Dextrose (z. B. Fruchtfleisch der Birne), wird noch am besten in seiner reducirenden Wirkung auf FEHLING'sche Lösung erkannt, wenn auch bekanntlich eine grosse Anzahl anderer Stoffe, Phloroglucin, Aesculin etc. gleich

reducirend wirken (STRASBURGER). Folgende Methode ist empfehlenswerth: Die Schnitte werden für einige Zeit in koncentrirte wässerige Kupferlösung gelegt, abgespült und in eine siedende Lösung von Seignettesalz (weinsaures Kalinatrondoppelsalz) getaucht. Die zuckerführenden Zellen enthalten dann einen dichten rothen Niederschlag des reducirten Kupferoxyduls (A. MEYER) Soll zu starke Erhitzung vermieden werden, können die Schnitte auch auf dem Objektträger in folgender Mischung bis zur Blasenbildung erhitzt werden: Es werden vermischt vor dem Gebrauch je 1 zu 2 Wasser, die sich getrennt lange haltenden 3 Stammlösungen 1. 35 Grm. Kupfervitriol auf 1 Liter, 2. 173 Grm. Seignettesalz auf 1 Liter, 3. 120 Grm. Aetznatron auf 1 Liter.

Rohrzucker (Saccharose) (z. B. in der Zuckerrübe), ebenso Raffinose, reduciren Fehling nicht, sondern erst nach ihrer Inversion in Glukose, am besten mit Hefeinvertin. Hefeinvertin wird für diesen Zweck brauchbar hergestellt, indem Presshefe mit Wasser in dickem Brei etwa 12 Stunden bei 40° stehen bleibt und der Extrakt abgepresst wird. Aus ihm wird mit Alkohol das Invertin gefällt (HOFFMEISTER). Soll Rohrzucker neben Traubenzucker nachgewiesen werden, so muss erst letzterer reducirt, das Kupferoxydul durch Magnesiumchlorid entfernt und jetzt erst die Invertirung und der Nachweis vorgenommen werden (HOFFMEISTER).

Litteratur: STRASBURGER (Gr. bot. Prakt., 3. Aufl., 1897), A. MEYER (Ber. d. d. bot. Ges., 1885), HOFFMEISTER (Jahrb. wiss. Bot, Bd. 31, 1899).

Magnus, Berlin.

Zunge. Die mikrotechnische Bearbeitung der Zunge bietet des Besonderen nicht viel. Zur Fixation eignen sich die meisten unserer Fixationsmittel, die eine gute Erhaltung der Oberflächenepithelien gewährleisten, wie Alkohol, konc. Sublimat, ZENKER'sche, FLEMMING'sche und HERMANN'sche Flüssigkeit, Bichromat-Essigsäure nach TELLYESNICKY und ähnliche. Wir geben der ZENKER'schen Flüssigkeit den Vorzug. Für Reptilienzungen empfiehlt v. SEILER vor allem konc. Pikrinsäure. Die Paraffineinbettung ergiebt überall gutes Schnittresultat, nur bei Thieren mit verhornten Papillen ist eine kombinirte (Celloidin-Paraffin) Einbettung anzuempfehlen. Als allgemeine Färbungsmethode für Uebersichtsschnitte wüssten wir keine, welche der VAN GIESON-Färbung vorzuziehen sei (Kerne und Keratohyalin braun, Bindegewebe leuchtend roth, Muskelfasern und seröse Drüsenzellen gelb, muköse Drüsenzellen blau). Zu speciellen Untersuchungen über das Oberflächenepithel kommen die im Artikel Haut, über das Drüsenepithel die im Artikel Drüsen beschriebenen Methoden zur Anwendung.

Etwas eingehender müssen wir uns mit der Mikrotechnik der oft untersuchten Nervenendigungen innerhalb des Zungenepithels befassen. Zur Fixation der Papillae foliatae circumvallatae und fungiformes geben Osmiumgemische wohl die besten Resultate, vor allem die FLEMMING'sche Flüssigkeit, die von HERMANN, SANDMEYER und VON EBNER verwendet worden ist. Der letztere empfiehlt auch Pikrinsublimat, HERMANN und MEYER konc. Sublimat. Die Schnitte werden am besten genau senkrecht zu den Blättern geführt, doch geben auch Flachschnitte instruktive Bilder. Zur Färbung eignet sich besonders Eisenhämatoxylin, Chromhämatoxylin und VAN GIESON, für FLEMMING-Präparate Safranin-Gentianaviolett. Zur Demonstration des Lymphraumes des primären Blattes der Papilla foliata führt DRASCH die Kanüle einer Pravazspritze längs des an der hinteren und inneren Seite jeder Papille verlaufenden Gefässbündels ein und injicirt Höllensteinlösung. Ist die Injektion gelungen, so füllt sich die Papille prall. Die Endigung der Nerven in den Zungenpapillen ist früher vor allem mittels Vergoldung, später mit der Golgi- und Methylenblaumethode untersucht worden. Zur Vergoldung hat DRASCH genaue Vorschriften gegeben. Er verwendet Thiere (Kaninchen

und Hasen), die bei einer Temperatur von 4—6° 1—2 Tage nach dem Tode gelegen haben, schneidet die Papilla foliata recht flach ab und präparirt die anhaftende Muskulatur möglichst los. Er legt dann das Präparat mit dem Epithel nach unten für $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden im Dunkeln in $^1/_2$%iges Goldchlorid. Ist die Papilla nach dieser Zeit zusammengerollt, so bringt er sie zur Reduktion in verdünnte Ameisensäure (1 : 5). Färbt sich die letztere nach einiger Zeit dunkelviolett, so kann man darauf rechnen, dass die Färbung gelungen ist. ROSENBERG vergoldet die Zungennerven nach der RANVIER'schen KOCH- oder nach der SERTOLI'schen Methode. Die besten Resultate ergiebt aber die HÉNOCQUE'sche Methode in ihrer Modifikation von CYBULSKI, über die man Näheres pag. 455 findet. Der Golgimethode bedienen sich VON EBNER, FUSARI und PANASCI und LENHOSSÉK, der letztere benutzt die doppelte Methode. Zur vitalen Färbung mittels Methylenblau injicirt ARNSTEIN einem eben getödteten Kaninchen eine 4%ige Lösung. Nach 15—20 Minuten, wenn die Zunge wieder abgeblasst ist, wird die Papille herausgeschnitten, zwischen Hollundermark in Schnitte zerlegt und die letzteren unter dem Mikroskop beobachtet, bis das Maximum der Färbung eingetreten ist. RÖSKE injicirt einem lebenden Kaninchen 15 Ccm. einer konc. körperwarmen Methylenblaulösung in die Vena jugularis. Nach dem Tode des Thieres (10—15 Minuten nach der Injektion) werden kleine Stückchen der Zungenschleimhaut herausgeschnitten und nach BETHE fixirt.

Litteratur: VON SEILER (Arch. mikr. Anat., Bd. 38, 1893), HERMANN (Ber. kgl. Sächs. Ges. Wiss. 1888), SANDMEYER (Arch. Phys., 1895), S. MEYER (Inaug.-Diss., Berlin 1896), DRASCH (Sitz. kais. Ak. Wiss. Wien, Bd. 87, 1883), ROSENBERG (ebenda, Bd. 93/94, 1886), VON EBNER (ebenda, Bd. 106, 1897), FUSARI und PANASCI (Arch. it. Biol., Bd. 14, 1901), VAN LENHOSSÉK (Verh. phys.-med. Ges. Würzburg, N. F., Bd. 27, 1894), ARNSTEIN (Arch. mikr. Anat., Bd. 41, 1893), RÖSKE (Inaug.-Diss., Berlin 1897).

Zusatzflüssigkeiten siehe Beobachtungsflüssigkeiten.

Abkürzungen für chemische Fabriken.

Berlin	Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation, Berlin, S. O.
Casella	LEOPOLD CASELLA & Co., Frankfurt a. M.
Durand	L. DURAND, HUGUENIN & Co. in Basel.
Elberfeld	Farbenfabriken vorm. FRIEDRICH BAYER & Co., Elberfeld.
Gauhe	GAUHE & Co., Alizarinfabrik in Eitorf a. d. Sieg.
Geigy	JOH. RUDOLF GEIGY & SOHN in Basel.
Höchst	Farbwerke vorm. MEISTER, LUCIUS & BRÜNING in Höchst a. M.
Kalle	KALLE & Co., Biebrich a. Rh.
Ludwigshafen	Badische Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen.

Alphabetisches Verzeichniss der citirten Autoren.

Druck von Gottlieb Gistel & Cie., Wien, III., Münzgasse 6.

